

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA
Departamento de Nutrición y Bromatología II



**Caracterización bioquímica de frutos de papaya (Carica
papaya, cv Sunrise), hembra y hermafrodita, en relación con
su aptitud al procesado por congelación**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

María Gloria Lobo Rodrigo

Directora

Pilar Cano Dolado

Madrid

ISBN: 978-84-8466-878-7

© María Gloria Lobo Rodrigo, 1995

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

CARACTERIZACION BIOQUIMICA DE FRUTOS DE

PAPAYA (*Carica papaya*, cv. *Sunrise*),

HEMBRA Y HERMAFRODITA,

EN RELACION CON SU APTITUD AL PROCESADO

POR CONGELACION

TESIS DOCTORAL

MARIA GLORIA LOBO RODRIGO

MADRID 1995

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

CARACTERIZACION BIOQUIMICA DE FRUTOS DE PAPAYA

(*Carica papaya*, cv. *Sunrise*), HEMBRA Y HERMAFRODITA,

EN RELACION CON SU APTITUD AL PROCESADO

POR CONGELACION

MARIA GLORIA LOBO RODRIGO

Madrid, 1995

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

CARACTERIZACION BIOQUIMICA DE FRUTOS DE PAPAYA

(*Carica papaya*, cv. *Sunrise*), HEMBRA Y HERMAFRODITA,

EN RELACION CON SU APTITUD AL PROCESADO

POR CONGELACION

MEMORIA

que para optar al grado de

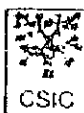
DOCTOR EN FARMACIA

presenta

MARIA GLORIA LOBO RODRIGO

INSTITUTO DEL FRIO
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

Madrid, 1995



Consejo Superior de Investigaciones Científicas

INSTITUTO DEL FRIO

Ciudad Universitaria. 28040 Madrid

Tel. (91) 544 56 07 - 549 23 00. Telefax (91) 549 36 27



**M. PILAR CANO DOLADO, DRA. EN CIENCIAS QUIMICAS,
COLABORADOR CIENTIFICO DEL INSTITUTO DEL FRIO DEL
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS,**

CERTIFICA: que el presente trabajo titulado "Caracterización bioquímica de frutos de papaya (*Carica papaya*, cv. Sunrise) Hembra y Hermafrodita, en relación con su aptitud al procesado por congelación", y que constituye la Memoria que presenta la Licenciada María Gloria Lobo Rodrigo para optar al grado de Doctor, ha sido realizada en el Departamento de Ciencia y Tecnología de Productos Vegetales en el Instituto del Frío del CSIC bajo mi dirección.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente Certificado en Madrid, a dieciocho de Septiembre de mil novecientos noventa y cinco.



M. Pilar Cano Dolado

A mis padres

A mis hermanos

A mis amigos

AGRADECIMIENTOS

La realización de la presente Tesis Doctoral no habría sido posible sin contar con las facilidades proporcionadas por el Instituto del Frío (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), y la disponibilidad y apoyo científico prestados por mi directora de Tesis Dra. M^a. Pilar Cano Dolado.

Deseo manifestar mi gratitud a la Dra. Araceli Redondo Cuenca, por la confianza depositada en mí al aceptar la ponencia de este Trabajo de Investigación.

Mi mayor agradecimiento a mis padres por el cariño y apoyo que siempre me han brindado. Deseo hacerles partícipes de esta Memoria pues con su actitud y su afán de superación me han inculcado las directrices a seguir en mi vida universitaria, profesional y personal.

Deseo expresar mi gratitud a la Dra. Begoña de Ancos por su inestimable ayuda en el desarrollo del estudio de los compuestos carotenoides, así como por su preocupación constante en la fase de redacción de l presente Trabajo de Investigación.

Mi más sincero agradecimiento a mi compañera y amiga Almudena Hernández Cimiano con quien he compartido mis mejores y peores momentos durante mi labor investigadora.

Tengo que mostrar mi agradecimiento al Departamento de Ciencia y Tecnología de Productos Vegetales por el apoyo material y humano que me han prestado. Especialmente a la Dra. Carmen Fúster, así como a Mari Carmen Rodríguez y Marianne Monreal, cuya colaboración desinteresada agradezco sinceramente.

Asimismo, agradezco a mis compañeros del "Frío" el "cálido" ambiente reinante durante estos tres años de continuo trabajo.

Mi abuela y abuelos ausentes han sabido crear una familia en la que combinaron la armonía en las relaciones personales y la responsabilidad en el trabajo. Me siento realmente afortunada de pertenecer a una familia tan unida.

Siempre son importantes los momentos de "relajación" que no habrían tenido lugar sin contar con mis hermanos y amigos canarios y peninsulares.

Por último quiero agradecer al Dr. Clive West la concesión de una beca postdoctoral en Wageningen, sin la cual no habría finalizado este trabajo de investigación con tanta premura.

INDICE

INDICE

1. INTRODUCCION.

1.1. ANTECEDENTES HISTORICOS DE LA PAPAYA.	1
1.2. CLASIFICACION SISTEMATICA.	2
1.3. MORFOLOGIA DE LA PLANTA.	3
1.3.1. <u>Propagación y plantación.</u>	9
1.3.2. <u>Factores que influyen en el desarrollo de la planta.</u>	14
1.4. EL FRUTO.	16
1.4.1. <u>Fructificación.</u>	16
1.4.2. <u>Composición del fruto.</u>	17
1.4.2.1. Composición química.	17
1.4.2.2. Composición bioquímica.	20
1.4.3. <u>Recolección y conservación del fruto.</u>	24
1.4.4. <u>Tratamientos post-cosecha.</u>	25
1.4.5. <u>Procesado de los frutos.</u>	26
1.5. CONGELACION DE FRUTAS.	28
1.5.1. <u>Operaciones previas al proceso de congelación.</u>	28
1.5.2. <u>Proceso de congelación.</u>	30
1.5.3. <u>Modificaciones de la calidad durante la conservación en estado</u> <u>congelado.</u>	35
1.5.3.1. Cambios físicos.	35

1.5.3.2. Cambios químicos y bioquímicos.	36
1.5.3.3. Factores tiempo, tolerancia y temperatura (TTT).	38
1.5.3.4. Factores producto, procesado y envasado (PPP).	40
1.5.4. <u>Descongelación</u>	41
 2. OBJETIVOS.	 44
 3. MATERIALES Y METODOS.	 46
 3.1. MATERIAL VEGETAL.	 46
3.2. CONSERVACION EN ESTADO REFRIGERADO.	49
3.3. PROCESADO DE LOS FRUTOS.	50
3.4. CONSERVACION FRIGORIFICA EN ESTADO CONGELADO.	54
3.5. PREPARACION DE LAS MUESTRAS OBJETO DE ANALISIS.	54
3.5.1. <u>Descongelación</u>	54
3.5.2. <u>Obtención y conservación de producto liofilizado</u>	55
3.5.3. <u>Congelación con nitrógeno líquido y almacenamiento a -80°C</u>	55
3.6. DETERMINACIONES ANALITICAS.	55
3.6.1. <u>Parámetros físicos</u>	56
3.6.1.1. Firmeza.	56
3.6.1.2. Color.	59
3.6.1.3. Exudado.	59
3.6.2. <u>Parámetros físico-químicos</u>	60

3.6.2.1. pH.	60
3.6.2.2. Acidez titulable.	60
3.6.2.3. Sólidos solubles.	60
3.6.2.4. Sólidos totales.	61
3.6.3. <u>Parámetros químicos</u>	61
3.6.3.1. Carotenoides.	61
3.6.3.2. Acidos orgánicos.	66
3.6.3.3. Pectinas totales.	69
3.6.4. <u>Parámetros bioquímicos</u>	71
3.6.4.1. Obtención del extracto enzimático.	72
3.6.4.2. Determinación de actividades enzimáticas.	72
3.6.4.2.1. Actividad Peroxidasa (POD).	72
3.6.4.2.2. Actividad Polifenoloxidasa (PPO).	73
3.6.4.3. Determinación de las proteínas extraídas.	73
3.6.4.4. Análisis electroforético en geles de bisacrilamida.	74
3.6.4.4.1. Preparación de los geles de bisacrilamida.	75
3.6.4.4.2. Preparación de las muestras.	76
3.6.4.4.3. Desarrollo de la electroforesis.	77
3.6.4.4.4. Revelado de geles.	78
3.6.4.4.4.1. Proteínas extraídas.	78
3.6.4.4.4.2. Isoenzimas de POD.	78
3.6.4.4.4.3. Isoenzimas de PPO.	79
3.6.4.4.5. Secado de geles.	79

3.7. ANALISIS SENSORIAL.	80
3.7.1. <u>Preparación de las muestras. Tipos.</u>	80
3.7.2. <u>Pruebas sensoriales.</u>	82
3.7.2.1. Aceptabilidad-preferencia.	82
3.7.2.2. Análisis descriptivos.	82
3.8. ANALISIS ESTADISTICO.	85
3.8.1. <u>Análisis descriptivo de la muestra.</u>	85
3.8.2. <u>Análisis de varianza.</u>	85
3.8.3. <u>T-test.</u>	86
3.8.4. <u>Análisis de frecuencia.</u>	86
 4. RESULTADOS Y DISCUSION.	 89
 4.1. PARAMETROS BIOQUIMICOS.	 89
4.1.1. <u>PUESTA A PUNTO DE LAS DETERMINACIONES</u>	
<u>ENZIMATICAS.</u>	89
4.1.1.1. Elección del tampón de extracción.	89
4.1.1.2. Elección del pH óptimo de actuación.	93
4.1.1.3. Especificidad de PPO hacia distintos sustratos.	94
4.1.1.4. Elección de la concentración de sustrato en la	
determinación de PPO.	95

4.1.2. <u>PARAMETROS BIOQUIMICOS: EFECTO DE LA</u>	
<u>MADURACION, PROCESO DE CONGELACION Y</u>	
<u>CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO</u>	99
4.1.2.1. Proteínas extraídas.	99
4.1.2.1.1. Discusión de los resultados.	103
4.1.2.2. Actividad POD total y específica.	105
4.1.2.2.1. Discusión de los resultados.	112
4.1.2.3. Actividad PPO total y específica.	113
4.1.2.3.1. Discusión de los resultados.	121
4.1.3. <u>CARACTERIZACION DE LAS PROTEINAS</u>	
<u>EXTRAIDAS Y DE LA ACTIVIDAD PEROXIDASA</u>	
<u>(POD) Y POLIFENOLOXIDASA (PPO).</u>	122
4.1.3.1. Puesta a punto de las técnicas electroforéticas para la	
determinación de proteínas extraídas, POD y PPO.	122
4.1.3.1.1. Revelado de las proteínas.	122
4.1.3.1.2. Revelado de la actividad POD.	123
4.1.3.1.3. Revelado de la actividad PPO.	124
4.1.3.2. Evolución de las proteínas extraídas.	125
4.1.3.2.1. Discusión de los resultados.	126
4.1.3.3. Evolución del patrón isoenzimático de la peroxidasa.	127
4.1.3.3.1. Discusión de los resultados.	130
4.1.3.4. Evolución del patrón isoenzimático de polifenoloxidasas.	132
4.1.3.4.1. Discusión de los resultados.	137

4.2. CARACTERISTICAS NUTRICIONALES. COMPUESTOS

RELACIONADOS.	139
4.2.1. <u>SOLIDOS SOLUBLES</u>	139
4.2.1.1. Discusión de los resultados.	143
4.2.2. <u>CONTENIDO EN AGUA Y EXUDADO</u>	144
4.2.2.1. Discusión de los resultados.	148
4.2.3. <u>SOLIDOS TOTALES</u>	149
4.2.3.1. Discusión de los resultados.	152
4.2.4. <u>PECTINAS TOTALES</u>	153
4.2.4.1. Discusión de los resultados.	157
4.2.5. <u>ACIDEZ</u>	159
4.2.5.1. pH.	159
4.2.5.2. Acidez titulable.	161
4.2.5.3. Análisis de los ácidos orgánicos por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (Oxálico, cítrico, galacturónico, málico, quínico, succínico y fumárico).	164
4.2.5.4. Discusión de los resultados.	184
4.2.6. <u>CAROTENOIDES</u>	187
4.2.6.1. Xantofilas.	200
4.2.6.2. Carotenos hidrocarbonados.	205
4.2.6.3. Esteres de xantofilas.	210
4.2.6.4. Discusión de los resultados.	220

4.3. CARACTERISTICAS SENSORIALES. 232

4.3.1. <u>RODAJAS DE PAPAYA</u>	234
4.3.1.1. Textura.	234
4.3.1.1.1. Análisis instrumental de la firmeza.	235
4.3.1.1.1.1. Discusión de los resultados.	239
4.3.1.1.2. Análisis sensorial de la textura.	240
4.3.1.1.2.1. Aceptabilidad de la textura.	241
4.3.1.1.2.2. Análisis descriptivo de la firmeza.	244
4.3.1.1.3. Discusión de los resultados.	246
4.3.1.2. Color.	249
4.3.1.2.1. Análisis instrumental del color.	249
4.3.1.2.2. Análisis sensorial del color.	257
4.3.1.2.2.1. Aceptabilidad del color.	257
4.3.1.2.2.2. Análisis descriptivo del color.	260
4.3.1.2.2.3. Discusión de los resultados.	262
4.3.1.3. Sabor.	266
4.3.1.3.1. Análisis sensorial del sabor.	266
4.3.1.3.1.1. Aceptabilidad del sabor.	266
4.3.1.3.1.2. Análisis descriptivo del sabor.	268
4.3.1.3.1.3. Discusión de los resultados.	271
4.3.2. <u>POSTRES</u>	273
4.3.2.1. Análisis sensorial de la textura.	274
4.3.2.1.1. Aceptabilidad de la textura.	274
4.3.2.1.2. Análisis descriptivo de la firmeza.	276

4.3.2.1.3. Discusión de los resultados.	278
4.3.2.2. Análisis sensorial del color.	280
4.3.2.2.1. Aceptabilidad del color.	280
4.3.2.2.2. Análisis descriptivo del color.	281
4.3.2.2.3. Discusión de los resultados.	284
4.3.2.3. Análisis sensorial del sabor.	285
4.3.2.3.1. Aceptabilidad del sabor.	285
4.3.2.3.2. Análisis descriptivo del sabor.	287
4.3.2.3.3. Discusión de los resultados.	289
 5. CONCLUSIONES.	 291
 6. BIBLIOGRAFIA.	 295
 7. ANEXO.	 306

1. INTRODUCCION

1.1. ANTECEDENTES HISTORICOS DE LA PAPAYA.

La papaya (*Carica papaya*) es una fruta tropical, que tiene su origen en América Central, probablemente al sur de Méjico, de donde se ha extendido por todos los países tropicales, cultivándose desde tiempo inmemorial en toda la zona citada, las Antillas, Brasil, Africa Tropical (Kenya, Tanganica...) y Norteamérica (California, Florida...).

Los españoles y portugueses la introdujeron en Filipinas y Malasia, y de allí a las Islas Hawaii, India y Ceilán, donde se cultiva a gran escala. Asimismo, se desarrolla muy bien en todo el archipiélago canario.

Las innovaciones de técnicas post-cosecha, así como el transporte aéreo han permitido que este fruto, que es muy sensible al tener una piel muy fina, se haya desarrollado para la exportación comercial. El grupo Solo, de frutos más pequeños, proporcionó en Hawaii en 1988 una producción por encima de los 22,4 millones de kg de producto fresco y 4,4 millones de Kg de producto procesado (puré o néctar), en 1093 hectáreas de terreno, que fueron exportados a América del Norte y Japón principalmente (Chan, 1993). En Malasia, en 1988, las plantaciones de papaya, variedad exótica, cubrían alrededor de 3,240 hectáreas (Ahmad, 1989).

En otros países como Filipinas, este fruto puede consumirse verde como hortaliza. Además, las hojas de esta especie frutal pueden secarse y utilizarse para hacer un té herbáceo. En la India, se utiliza el fruto verde para hacer salsas picantes, y cocinado como curry. Otra aplicación es conservarlo enlatado en trozos en almíbar (Chan, 1993).

En España se cultiva en las Islas Canarias, conociéndose desde hace más de 200 años, experimentando en los últimos años una gran expansión que está en relación con la demanda de este fruto en el mercado (Rodríguez y Galán, 1992).

Otros nombres populares de esta fruta son: "papaw" o "pawpaw" en el Reino Unido, "mamao" en Brasil, "lechoso" en Venezuela y "fruta bomba" en Cuba.

1.2. CLASIFICACION SISTEMATICA.

El papayo es una dicotiledónea del orden Parietales, cuyo género *Carica*, al que pertenece la papaya, se incluye actualmente en la familia Caricaceae o Papayaceae, aunque algunos botánicos lo han incluido en la familia de Passifloraceae, la familia de la pasionaria, y está relacionado por su fruto con la familia Cucurbitaceae, que es la familia de la calabaza y el melón. Este género contiene alrededor de 40 especies, pero sólo tres son de importancia hortifrutícola; *C. papaya*, *C. candamarcensis* (papaya de montaña) y *C. monoica* (Ibar, 1986).

Según Storey, (1972) y Samson, (1980), los cultivares que se mantienen en la actualidad son, "Solo" de Hawaii, "Hortus gold" de Africa del Sur, "Improved Petersen" de Australia y "Betty" de Florida. Se han desarrollado muchas líneas del cultivar "Solo" como son "Solo 5", "Solo 8", "Bush" y "Sunrise". Todos ellos son hermafroditas con frutos en forma de pera, un peso alrededor de 0,5 kg, teniendo los dos últimos la pulpa de color rojizo. El cultivar "Hortus Gold" es dioico, su pulpa es de color dorado y su peso en

torno a 1,5-2 kg. En la India, el cultivar "Coorg Honey" es bisexual. En Indonesia "Semanka" tiene frutos grandes de pulpa rojiza. En Australia los cultivares más importantes son: "Guinea Gold" (bisexual), "Sunnybank" y "Hybrid 5" (dioico) (Salunkhe, 1984). Otros autores hablan del grupo "Solo" en el que se enclavan varios cultivares como el "Sunrise", "Higgins" y "Sunrise" (Hamilton e Ito, 1968; Rodríguez y Galán, 1992).

1.3. MORFOLOGIA DE LA PLANTA.

El papayo es una planta herbácea de crecimiento rápido y de vida corta. La duración de su vida es de 7 a 15 años pero desde un punto de vista comercial, debe ser como máximo de tres años, ya que después la recolección se hace dificultosa por la altura que alcanza la planta y porque la producción disminuye, no siendo por tanto rentable su mantenimiento.

De porte singular, puede llegar a 7,5 metros o más de altura y tiene el aspecto de un pequeño árbol de tronco simple, sin ramificar, de consistencia más carnosa que leñosa, con las cicatrices de las hojas desprendidas a lo largo de él y con un penacho o cogollo de hojas perennes de color verde intenso en su ápice. Las hojas, de gran tamaño y provistas de un largo peciolo, son palminervias y están divididas en siete grandes lóbulos en disposición palmada, que a su vez se encuentran divididas en forma pinnada. Las flores son actinomorfas, pentámeras, unisexuales o hermafroditas. El fruto es en baya. Todos los órganos de la planta segregan un latex que contiene papaína, que es un enzima proteolítico (Ibar, 1986).



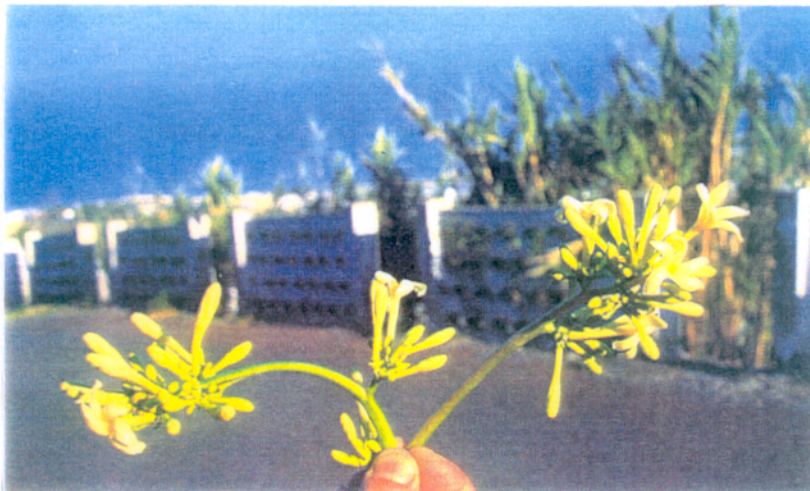
Fotografía Invernadero de papaya (*Carica papaya*, cv. Sunrise) en la localidad de las Galletas (Tenerife, Islas Canarias).

Esta especie frutal tiene un comportamiento floral muy característico y curioso.

La papaya tiene los sexos separados, pues incluso las flores masculinas (♂) y femeninas (♀) están en distinto pie de la planta, por lo que es una planta

dioica; sin embargo, algunas veces las flores masculinas (δ) y femeninas (φ) están en el mismo pie, por lo que la planta es monoica, y si existen flores masculinas (δ), femeninas (φ) y hermafroditas (φ), entonces la planta es polígama o trioica, teniendo los frutos formas distintas según el tipo de flor.

La flor masculina es inconfundible, ya que crece en largos pedúnculos, que miden más de medio metro, nacen de la axila de las hojas y en cuyos extremos se encuentran racimos en los que se pueden contar, en cada uno, 15-20 florecillas.



Fotografía 2: Inflorescencia masculina.

Las flores masculinas, son más pequeñas que las femeninas y hermafroditas; el cáliz está formado por una corona o estrella de cinco puntas poco marcadas y situada en la prolongación del pedúnculo; la corola, formada por cinco pétalos soldados (gamopétalas), originan un largo tubo en cuyo interior se encuentran 10 estambres, colocados en dos verticilos. En ocasiones,

estas flores presentan rudimentos de pistilo sin estigma. Normalmente, estos pistilos no se convierten en fruto, pero algunas veces dan lugar a unos frutos alargados de muy mala calidad, situados en los extremos de los pedúnculos.

Las flores femeninas tienen el cáliz formado por una corona o estrella de cinco puntas bien marcadas. La corola está formada por cinco pétalos separados, de forma oval alargada, de color blanco amarillento, que cuando son muy tiernos, su punta tiene color violeta, no están soldados y se desprenden con facilidad. Estas flores, naturalmente, no tienen estambres, a lo más pueden conservar cinco estaminoides, que son restos estériles de los estambres. Los carpelos, en número de cinco, son abiertos y están soldados entre sí, dando lugar a un ovario unilocular de placentación parietal, con cinco estigmas muy divididos en disposición palmeada. Los frutos de este pie son globosos.



Fotografía 3: Flor femenina.

La flores hermafroditas pueden ser de tres tipos:

- * **Pentandrias:** Son parecidas en su aspecto a las flores femeninas, de las que se diferencian únicamente, en que al separar los pétalos se aprecian cinco estambres fértiles y en que en el ovario se observan cinco lóbulos, correspondientes a los cinco pistilos. Los frutos de esta flor son globosos y bien lobulados.
- * **Elongatas:** Son semejantes a las masculinas. Son alargadas, cilíndricas y gamopétalas, tienen diez estambres fértiles y el ovario es cilíndrico y alargado. Los frutos que originan también son alargados.
- * **Intermedias o irregulares:** Su aspecto es intermedio entre la pentandria y la elongata, pero sin estar bien definida, produciendo frutos de tamaño y forma irregular.



Fotografía 4: Flor hermafrodita.

Las flores femeninas en condiciones normales necesitan el polen de las masculinas o hermafroditas para producir frutos, aunque en muchas ocasiones en los trópicos y particularmente en Canarias pueden desarrollarse partenocárpicamente. Los frutos más comerciales son los hermafroditas. Por tanto es deseable que en la plantación, el número de plantas hermafroditas sea mayor que el de femeninas, con lo que conseguimos, por un lado que se polinicen adecuadamente las plantas femeninas y por otro una mayor productividad de frutos hermafroditas, que son los que demanda el mercado. Las plantas masculinas también pueden polinizar las flores femeninas y hermafroditas, pero éstas no producen frutos adecuados para el comercio.

El sexo está determinado por tres factores genéticos: M_1 es dominante para el desarrollo de flores masculinas, el M_2 es dominante para flores hermafroditas y m es recesivo para flores femeninas. Cada óvulo o polen es haploide llevando sólo uno de estos factores (Chandler, 1962).

A efectos prácticos es conveniente conocer qué sexo se obtiene en los distintos cruces posibles, como se muestra en la Tabla I, de los autores Rodríguez y Galán (1992):

TIPO DE CRUCE		SEXO OBTENIDO		
DONANTE DE POLEN	RECEPTOR DE POLEN	♂	♀	♂
♀	♀	--	50%	50%
♂	♀	25%	25%	25%
♂	---	--	50%	25%

Tabla I: Sexo de la planta obtenido a partir de todos los posibles cruces.

El problema reside en que hasta la floración no se sabe de qué sexo va a ser la planta. De ahí que se aconseje sembrar alrededor de 2 ó 3 plantas por hoyo para asegurarse de que, al menos una de ellas va a ser hermafrodita.

Aunque el sexo de las flores viene determinado genéticamente, las condiciones del medio pueden producir variaciones a nivel de expresión de los caracteres sexuales, que se traducen en fenómenos temporales de cambio de sexo en las flores, fenómeno muy frecuente en Canarias cuando las temperaturas están por debajo de 20°C. (Rodríguez, y Galán, 1992).

Las flores hermafroditas tienen la peculiaridad de transformar los estambres en carpelos (carpeloidía) cuando las temperaturas están por debajo de 20°C en el momento de formación de la flor, originando frutos deformes que no pueden ser comercializados. Esto nos conduce a comprender que, en los mejores emplazamientos canarios y sobretodo bajo invernadero, es posible producir con éxito frutos hermafroditas del cultivar "Sunrise", para la exportación. Existen otros cultivares "Higgins" y "Kapoho", que son menos productivos que el "Sunrise".

1.3.1. PROPAGACION Y PLANTACION.

La forma más fácil y económica de propagar el papayo es por medio de semillas, a pesar de las dificultades que se presentan al obtenerse plantas de diferente sexo y que, en ocasiones, no reproducen exactamente las características de la planta originaria. Estos inconvenientes pueden evitarse recurriendo a la multiplicación de la planta por medio de esquejes, estacas o injertos.

Los esquejes se obtienen de las ramificaciones del arbolito, y puesto que éste no se ramifica hasta que es viejo (al cabo de 3-4 años de cultivo), se debe proceder a su obtención artificial. Para ello en los árboles de más de tres años se procede a la operación de desmoche, que consiste en la eliminación de la cabeza o cogollo del árbol, con lo que se le obliga a ramificarse.

Cuando estos brotes tienen una longitud de 25-30 cm se cortan a ras del árbol, sumergiendo la parte cortada en agua caliente (50°C) para cauterizar la herida y evitar la pérdida de savia. A continuación se procede a su plantación en macetas de plástico de color negro, empleando una mezcla a partes iguales de tierra franca de jardín, arena gruesa y mantillo. Estas macetas se colocan en un lugar cubierto, caliente, pero fuera de la acción directa de los rayos solares, donde se mantienen con buena humedad, hasta que emitan raíces y sean aptas para el trasplante.

Este procedimiento, por el que se obtienen plantas iguales a la originaria, tiene el inconveniente de que es muy laborioso, costoso y además obliga a mantener la plantación vieja un año más para obtener los renuevos necesarios.

Por todo lo anteriormente expuesto se recurre normalmente a la multiplicación por semillas.

El fruto contiene gran cantidad de semillas que están cubiertas de una capa gelatinosa, que ha de eliminarse para facilitar la germinación, frotando las semillas con la mano y un puñado de tierra, con dos telas o con una esponja de caucho. Después se lavan, se escurren y se colocan sobre una hoja de papel para que se sequen. La semilla de papaya sana, secada al aire, es

bastante duradera ya que guardada en un recipiente impermeable al aire con un poco de cloruro cálcico conserva su viabilidad por 2-3 años.

La siembra puede hacerse en el lugar definitivo, aunque es mejor proceder a la siembra previa en semillero. Estos se preparan en macetas de turba o plástico negro con una mezcla de tierra de jardín, arena gruesa y mantillo a partes iguales.

Las semillas, depositadas en las macetas, deben cubrirse con una capa de arena gruesa o vermiculita de 0,5 cm y colocarse en lugar sombreado.

La tierra del semillero debe mantenerse húmeda, pues a los diez días de la siembra comienza la germinación, colocándose a pleno sol cuando los cotiledones estén todavía verdes. Cuando las plantas alcanzan 10-15 cm, a los 2 meses aproximadamente, se transplantan al lugar definitivo.

El trasplante al terreno definitivo se realiza cuando las plantas tienen unos 10-15 cm de altura. Se abren hoyos de 0,5 m de anchura y 0,80 m de profundidad. Si no se estercoló se deben aplicar 5 kg aproximadamente de estiércol mezclado con 0,25 UF de potasio y 0,1 UF de fósforo, evitando que el estiércol esté en contacto con las raíces. Las plantas se deben enterrar al mismo nivel que tenían en el semillero, de manera que el cuello (inserción de raíces a tronco) esté justo a nivel del suelo, de lo contrario se pudriría el tallo. El marco de plantación es de 3 m entre filas y 2 m entre plantas.

En el caso de la multiplicación por semillas, es necesario, a la hora de plantar, tener en cuenta que podemos obtener diferentes resultados, según empleemos semillas procedentes de árboles femeninos, cuya flor haya sido

fecundada por polen procedente de árboles masculinos, o por polen de flores hermafroditas.

Así, si la flor fue fecundada por polen procedente de una flor masculina, al sembrar las semillas se producirán la mitad de plantas macho y la otra mitad serán plantas hembra. En este caso se sembrarán en cada maceta tres o cuatro semillas de las que saldrán plantas masculinas y femeninas, de forma que al hacer el trasplante se trasladan todas las plantas y en el primer año, al desarrollarse, las plantas florecen y es entonces cuando de cada conjunto se deja una sola planta, eliminando las otras. Normalmente se deja una planta macho por cada quince hembras, para que actúe de polinizadora. Según el número de semillas que introduzcamos en el hoyo tendremos las siguientes posibilidades de tener una planta macho o hembra (Rodríguez y Galán, 1992).

Nº PLANTAS / HOYO	PADRE (♂) Y MADRE (♀)	
	% HIJOS (♂)	% HIJOS (♀)
1	50	50
2	25	75
3	12,5	87,5
4	6,25	93,75

Tabla II: Posibilidad de obtener una planta macho o hembra según el número de semillas introducidas por hoyo.

Si queremos obtener semillas que produzcan sólo frutos femeninos y hermafroditas, será necesario forzar la polinización de una flor femenina con el polen recogido de una flor hermafrodita. En los estigmas de la flor femenina se deposita con un pincel el polen recogido de una flor hermafrodita. A continuación se cubren las flores así tratadas con una bolsita de plástico blanco o de celofán, permaneciendo así hasta que el fruto madure. Como cada fruto contiene alrededor de 800-1000 semillas, bastará con repetir esta operación en cuatro o cinco flores para disponer de una cantidad abundante de semillas. En este caso bastará con depositar un par de semillas por maceta y una vez que las plantas han alcanzado unos 10 cm se deja una sola. Si existe un buen mercado para los dos tipos de frutos hembras y hermafroditas no habrá ningún problema, pero si el mercado prefiere los frutos hermafroditas como ocurre en Hawaii o en Canarias, se plantará más de una semilla en cada hoyo y al empezar la floración se dejarán sólo los hermafroditas. Así el porcentaje de plantas hermafroditas que pueden obtenerse según el número de semillas que se planten por hoyo y quién sea el donante de polen y el receptor sería según Rodríguez y Galán (1992):

Nº DE PLANTAS POR HOYO	TIPO DE CRUCE		
	PADRE (♂) MADRE (♀)	PADRE (♀) MADRE (♀)	PADRE (♂) MADRE (♀)
1	33,0	50,0	66,7
2	54,8	75,0	88,9
3	69,0	87,5	96,3
4	97,0	93,7	98,8

Tabla III: Porcentaje de plantas hermafroditas que pueden obtenerse según el número de semillas plantadas y quién sea el donante y el receptor de polen.

Estas plantas no se podan y cuando tienen 3 años son demasiado altas y están muy expuestas a la ruptura, además son menos productivas, no interesando su explotación comercial, de ahí que se sustituyan por otro nuevo cultivo.

1.3.2. FACTORES QUE INELUYEN EN EL DESARROLLO DE LA PLANTA.

Las condiciones esenciales para el buen desarrollo de la planta y el logro de una buena fructificación son la humedad y el calor. Puede resistir fríos ligeros pero si las temperaturas son bajas durante mucho tiempo se produce un retraso en el crecimiento y una merma en la producción.

Las temperaturas óptimas para el cultivo se encuentran alrededor de 25°C, considerándose límites térmicos extremos 20°C y 33°C, pues si la temperatura es inferior a 21°C o superior a 33°C se favorecerán los fenómenos de carpeloidía y esterilidad femenina respectivamente (Rodríguez, y Galán, 1992). Las zonas de cultivo en Canarias se emplazan según las condiciones de temperatura en las proximidades de la costa en la vertiente sur, siendo aconsejable la utilización de invernaderos fuera de las zonas más cálidas.

No es una planta sensible al viento aunque pudiera parecer lo contrario. El tallo de aspecto semejante a una palmera es muy flexible, y a él están sujetos los peciolo de las hojas y los pedúnculos de las flores, por lo que es muy difícil que se desprendan. El viento podrá balancear la planta, romper algunas hojas, pero no dañará ni flores ni frutos. En zonas ventosas se recomienda la utilización de cortavientos para evitar la pérdida foliar, principal responsable de la elaboración de nutrientes.

El riego en cultivos al aire libre, es 12000 m³/Ha/año aproximadamente, lo que equivale a 16 litros/planta/día. Sin embargo, en condiciones de invernadero, utilizando riego por goteo, el consumo puede reducirse a algo más de la mitad, 5-6 litros/planta/día.

En cuanto al abonado, un aporte continuo de nitrógeno favorece enormemente su crecimiento. El potasio, proporciona una mayor cantidad de azúcar y de sólidos solubles, y el fósforo aumenta el cuajado. Las recomendaciones de abonado por planta y día son de 0,336 g de fosfato monoamónico, 2,099 g de nitrato potásico y 0,857 g de nitrato cálcico. (Rodríguez y Galán, 1992).

La papaya puede adaptarse a una variada gama de suelos aunque es preferible que sean arenosos-limosos, con buena estructura, rico en materia orgánica y con un buen drenaje y aireación para evitar que se pudran las raíces. El pH óptimo está comprendido entre 5,5 y 6,5, pero puede cultivarse sin grandes problemas hasta un pH de 8,0. Tolera mejor los suelos ricos en sales que las plataneras, aunque en las zonas costeras los daños causados por la "maresía" son considerables.

Es una planta muy sensible a hongos de suelo, por lo que hay que realizar algún tipo de desinfección del suelo antes de la plantación. Los papayos son atacados por nematodos, arañas (araña roja), pulgones, hongos, lepidópteros...; sin embargo se conoce la manera de combatir estas plagas y enfermedades.

1.4. EL FRUTO.

1.4.1. FRUCTIFICACION.

La fructificación de la papaya se inicia a los 10-12 meses, dependiendo del clima y de la variedad. Algunas veces es aconsejable el aclareo de los flores y frutos defectuosos, para evitar que los frutos salgan amontonados y con deformaciones. También se deben eliminar las hojas que estén intercaladas con los frutos.

En el cultivar Sunrise se ha observado, que la longitud entre los nudos es mayor (3,5 cm) que en otros cultivares del tipo Solo, lo que favorece que puedan existir 2-3 frutos por pedúnculo sin que se produzcan daños por rozamiento. Además, las primeras flores se inician a una altura inferior a 1 m, lo que facilita la recolección de los frutos.

El tiempo necesario desde que se abre una flor hasta que madura su fruto es de aproximadamente 5-6 meses, aunque depende de la climatología y de la variedad.

Los frutos del cultivar "Sunrise" hembras son globosos mientras que los hermafroditas son piriformes, ambos son de menor tamaño que los de otras variedades. Tienen una piel fina y su pulpa es de color naranja brillante, jugosa, perfumada y azucarada, de sabor muy agradable. La cavidad central está rellena de gran cantidad de semillas de color negro, redondas, rugosas y del tamaño de un guisante. Los frutos femeninos formados partenocárpicamente no portan dichas semillas.



Fotografía 5: Morfología de los frutos de papaya hermafrodita y hembra.

1.4.2. COMPOSICION DEL FRUTO.

1.4.2.1. COMPOSICION QUIMICA.

La papaya es un fruto climatérico. El climaterio es un estado de autoestimulación, en el que se produce un cambio de crecimiento a envejecimiento de los frutos, observándose un incremento repentino en la actividad respiratoria, así como cambios bioquímicos iniciados por la producción autocatalítica de etileno (Rhodes, 1970). Blakesley y col. (1979), determinaron que la calidad organoléptica, el perfil de volátiles y el contenido lipídico dependía del estado de madurez del fruto.

Selvaraj y col. (1982), analizaron en cuatro cultivares de papaya (Coorg Honey Dew, Pink Flesh Sweet, Sunrise and Washington) el contenido en azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, vitaminas y minerales en frutos a distintos estados de desarrollo, pero sin llegar a la madurez. El contenido en humedad variaba de un 87 a 94%, el de carbohidratos de 2 a 12% (sacarosa 7-50%, glucosa 14-78% y fructosa 13-50% del contenido total de carbohidratos), la materia seca aumentaba de un 7% a los 15 días de la formación del fruto, a 13% en la cosecha. Durante este período, hay una débil disminución del contenido en sólidos insolubles en alcohol, almidón y algunos minerales y un aumento en azúcares. La concentración de ácidos varía mucho de su formación a maduro. El contenido en hierro aumentaba con el desarrollo del fruto, mientras que el potasio, fósforo y calcio no sufrían apenas modificaciones. El contenido en vitamina C y A, así como en proteínas aumentaba con la maduración.

El cambio más significativo que ocurre en la maduración del fruto es la aparición de azúcares solubles, cuyo contenido y clase varía según el tipo de fruto, variedad y condiciones climáticas. Los polisacáridos se metabolizan en azúcares, hay un aumento en el dulzor. Según Chan y col. (1979) el azúcar predominante en la papaya madura es sacarosa (48,3%), seguido de glucosa (29,0%) y fructosa (21%), y trazas de pseudoheptulosa (Ogata y col., 1972). El enzima que cataliza la inversión de sacarosa, β -fructofuranosidasa, también está presente (Chan y Kwok, 1975). Al ser más elevado el contenido en azúcares que en ácidos, el sabor dulce predomina. La acidez titulable aumenta a medida que el fruto madura a 24°C pero una vez alcanzada, disminuye (deArriola y col., 1975). El contenido en ácidos orgánicos de la papaya madura es más bajo que el de otras frutas y esto contribuye a su agradable sabor dulce (Chan y col., 1971).

En la papaya, a diferencia de la mayoría de las frutas, se produce un aumento en el contenido de vitamina C a medida que se desarrolla el fruto, alcanzándose el máximo valor en la madurez (55 mg/100 g de producto comestible).

El mineral más abundante encontrado en papaya es el potasio, que se suele encontrar combinado con algunos ácidos orgánicos (Awada y Suehisa, 1973).

El sabor y aroma "flavor" de la papaya está constituido por un gran número de compuestos volátiles, siendo el mayoritario el linalol, seguido del bencilisotiocianato (Flath y Forrey, 1977).

Durante la maduración la pulpa de papaya sufre un cambio de color de verde a naranja. Este proceso es debido a la pérdida de clorofilas y a la síntesis de carotenoides (MacKinney, 1961; Yamamoto, 1964). Estos cambios de pigmentación se producen al sufrir los cloroplastos cambios estructurales originándose los cromoplastos.

A lo largo del período de maduración, los carotenoides del cloroplasto (α y β -carotenos, luteína, violaxantina y neoxantina) disminuyen y aumentan los carotenoides del cromoplasto (criptoxantina, anteraxantina y zeaxantina), al tiempo que se produce una carotenogénesis, siendo los productos mayoritarios en la fruta madura el α y β caroteno (deArriola y col., 1980; Ikemefura y Adamson, 1985).

Existe muy poca información sobre la relación entre el cambio de color de la pulpa y el patrón de carotenoides en distintos estados de maduración.

Los últimos estudios epidemiológicos y de laboratorio realizados, han dado lugar a un incremento del interés sobre los carotenoides, pues estos no sólo son precursores de la vitamina A, sino que además son posibles compuestos anticancerosos y protectores de la mucosa gástrica (Peto y col., 1981; Mozsik y col., 1984; Colditz y col., 1985).

Asimismo, parece ser que pueden prevenir la aparición de cáncer de piel inducido tanto por luz UV como por la combinación de sustancias carcinógenas con radiaciones UV. Los carotenoides actúan uniéndose a radicales libres y peróxido (Mordt, 1993). Existen otros alimentos pobres en β -caroteno pero que contienen carotenoides oxigenados (xantofilas) que también están relacionados con la protección contra el cáncer (Shekelle y col., 1981; Moon y Micozzi, 1988).

1.4.2.2. COMPOSICION BIOQUIMICA.

Los enzimas son proteínas especializados en catalizar reacciones biológicas, por lo tanto, influyen en la calidad final de los productos vegetales. Se clasifican en función del tipo de reacción que catalizan en seis grupos:

- * Transferasas. Catalizan reacciones de transferencia de grupos funcionales.
- * Liasas. Catalizan reacciones de adición a dobles enlaces.
- * Isomerasas. Catalizan reacciones de isomerización.
- * Ligasas. Catalizan reacciones de formación de enlaces con intervención del ATP.
- * Hidrolasas. Catalizan reacciones de hidrólisis.
- * Oxido-reductasas. Catalizan reacciones de oxido-reducción.

En productos vegetales la mayoría de las reacciones catalíticas enzimáticas, son fruto de la actuación de hidrolasas y oxido-reductasas (Scott, 1975).

Durante la maduración de los frutos se produce una disminución de la firmeza al originarse una desmetilación y despolimerización enzimática de las protopectinas, convirtiéndose en pectinas solubles. Se forman polímeros de menor peso molecular y menor número de grupos metoxilo, que son insuficientes para mantener la firmeza de la fruta. En este proceso están implicadas dos enzimas pécticas que son la poligalacturonasa (PGasa; E.C. 3.2.1.15) y la pectinmetilesterasa (PME; E.C. 3.1.1.11) (Salunkhe, 1984).

La actividad de la nitrato-reductasa (E.C. 1.6.6.2) varía con la madurez, localizándose en mayor proporción en el exocarpio. Este enzima controla los niveles de nitrato causantes de las alteraciones que se producen en papaya enlatada. Para reducir el contenido de nitrato del mesocarpio Menery y Jones, (1972), propusieron acelerar la reducción enzimática exponiendo los frutos cosechados a la luz.

El enzima mirosinasa o tioglucosidasa (E.C. 3.2.3.1.), hidroliza bencilglucosinolato originando bencilisotiocinato responsable del desarrollo de olores indeseables durante el almacenamiento (Tang, 1971).

Otro enzima hidrolítico es la invertasa o β -fructofuranosidasa (E.C. 3.2.1.26), que actúa sobre azúcares no reductores, sacarosa, convirtiéndolos en azúcares reductores, glucosa y fructosa (Chan y Kwok, 1975, 1976), aumentando la susceptibilidad al pardeamiento no enzimático. Su rápida actividad hidrolítica, hizo que muchos autores pensarán en la no existencia de

sacarosa en papaya. Sin embargo, esto fue desmentido más tarde por Chan y Kwok (1976) que determinaron que el 50% de la sacarosa se perdía a los 2,6 minutos durante el proceso de extracción previo a su análisis.

La fosfatasa ácida (E.C. 3.1.3.2) hidroliza los puentes P-O de monoésteres ortofosfóricos produciendo ROH y H_3PO_4 , que disminuye el pH al realizar y almacenar puré de papaya (Carreno y Chan, 1982).

La catalasa (E.C. 1.11.16) es un enzima estable durante la refrigeración y la congelación de los frutos. Sin embargo, se inactiva al acidificar el medio, pH 3.5, y por calentamiento (Chan y col., 1978).

En todos los productos vegetales existe un grupo de enzimas, oxido-reductasas, que son la causa de la mayor parte de las alteraciones de la calidad sensorial. Estos enzimas pueden producir pardeamientos enzimáticos, aparición de aromas extraños y decoloración de ciertos pigmentos, con el consiguiente descenso del valor nutritivo al disminuir principalmente el contenido vitamínico (Aylward y Haisman, 1969).

En ocasiones, cuando un fruto se magulla, corta, pela,... sufre un oscurecimiento rápido al exponerse al aire, pues se produce una conversión de los compuestos fenólicos a melaninas, que originan una coloración parda (Eskin, 1990). Los principales enzimas con actividad oxido-reductasa presentes en los productos vegetales son:

* Lipoxigenasa. Es el enzima responsable de la oxidación de ácidos grasos esenciales como linoleico, linolénico y araquidónico, del desarrollo de malos sabores y de la oxidación de carotenos y otros pigmentos.

- * Alcohol-deshidrogenasa y aldehído-deshidrogenasa. Estos enzimas reducen aldehídos a alcoholes o los oxidan a ácidos, siendo por tanto NAD^+/NADH dependientes. Estas reacciones están relacionadas con una reducción de aldehídos asociados a malos olores y con el desarrollo de ésteres que son los componentes mayoritarios responsables del sabor en algunas frutas.
- * Peroxidasa. Se considera como índice de maduración y senescencia, pues está relacionada con la biosíntesis de etileno, el balance hormonal, la integridad de la membrana, así como con el control de la respiración (Haard, 1973). Además parece ser que participa en la degradación de clorofilas.
- * Polifenoloxidasas. La actividad de este enzima varía marcadamente entre productos vegetales pertenecientes a distintas variedades de una misma especie, según el grado de madurez, las condiciones de cultivo... Su importancia deriva de su implicación en los mecanismos de pardeamiento enzimático, que no sólo conducen a alteraciones en el color, sino que también afectan a su sabor y valor nutritivo. No obstante, en determinados alimentos como té, cacao, café, ciruelas, dátiles y uvas negras, la acción de este enzima (polifenoloxidasas) es imprescindible para que alcancen sus propiedades características (Vamos-Vigay, 1981).

El papel de estos enzimas en los procesos degradativos que tienen lugar en los productos vegetales, es muy complejo, participando en numerosas rutas degradativas, que en muchos casos se interconexionan.

Los sistemas enzimáticos objeto de estudio en esta Memoria de Tesis Doctoral han sido la Peroxidasa y la Polifenoloxidasas.

1.4.3. RECOLECCION Y CONSERVACION DEL FRUTO.

Si la fruta va destinada a mercados alejados, se debe cosechar cuando empieza a amarillear, mientras que si va destinada al consumo en mercados locales, puede dejarse en el árbol 2-3 días más. Para recoger el fruto se corta el pedúnculo con una navaja afilada y se coloca en recipientes acolchonados, en una sola capa, para evitar que se golpeen o machaquen.

Los frutos recogidos cuando comienzan a amarillear desarrollan un buen sabor conservándolos a temperaturas tropicales. Conservándolos a 10-12°C se prolonga su vida pero no alcanzarán su sabor característico. Los frutos mantenidos a una temperatura igual o por debajo de 7,2°C no maduran normalmente cuando se llevan a un local con una temperatura adecuada para que maduren, porque el enfriamiento ha determinado algún cambio, que interfiere el proceso normal de maduración del fruto (Salunkhe, 1984).

Además el frío no sólo afecta al desarrollo interno de las papayas, sino que también produce pardeamiento de la piel y una pérdida de acidez de la pulpa. Este fenómeno, conocido como "daño por frío" (chilling injury), puede ser explicado por una disminución en la síntesis de algunos compuestos de importancia para el fruto o por una aumento en la producción de sustancias tóxicas (Wilkinson, 1970). Los daños causados por el frío pueden hacer que la papaya no madure de forma adecuada, que no se desarrolle color en la pulpa, se acumule agua en los tejidos, persista el color verde en la piel, se haga más susceptible al ataque de hongos...(Rolz, 1973).

1.4.4. TRATAMIENTOS POST-COSECHA.

Las papayas que no puedan consumirse o procesarse inmediatamente, se almacenan a 10-13°C durante 10-15 días. Sin embargo, muchos frutos pueden perderse debido a algún deterioro post-cosecha. Distintos autores han investigado el método más aconsejable para evitar estas pérdidas. Así, los autores Akamine y Arisumi (1953) trataban las papayas, introduciéndolas en agua caliente a 49°C durante 20 minutos. Couey y Farias (1979), además del tratamiento con agua caliente realizaba un recubrimiento con una cera que contenía algún producto de acción fungicida.

Asimismo, se ha ensayado la conservación en atmósferas controladas (CA). deArriola y col. (1980) concluyen que su utilización conlleva un aumento en el coste del producto, pero no necesariamente implica una mayor calidad de la fruta.

El almacenamiento a presión subatmosférica (20 mm Hg, 10°C, y 90-98% de humedad relativa) en contenedores hipobáricos durante los 18-21 día de embarque, inhiben la maduración y el desarrollo de enfermedades (Alvarez, 1980).

La irradiación gamma (75 Krad) puede ser suficiente para desinfectar estos productos y, por tanto, aumentar su tiempo de almacenamiento al retrasar el proceso de maduración (Clarke, 1971). Beyers y col. (1979), llevaron a cabo el estudio de algunos constituyentes como los azúcares totales, proteínas, lípidos, vitaminas y elementos traza, en papayas sometidas y no sometidas a radiación, no observando diferencias entre ambas.

1.4.5. PROCESADO DE LOS FRUTOS.

Los problemas de transporte y comercialización en fresco de la papaya han conducido a la necesidad de un estudio sobre la aptitud de esta fruta a diferentes formas de procesado, que nos permitan obtener un producto, que pueda llegar al consumidor con unas características lo más similares posibles a las del fruto fresco.

En los últimos años, la papaya se ha procesado de diferentes formas. Distintos autores hacen una revisión de estos productos procesados como Chang y Tang (1979), deArriola y col. (1980) y Jagtiani y col. (1988).

Según el tipo de procesado final:

*** Papaya enlatada.**

Las papayas maduras, lavadas, peladas y sin semillas se trocean en cubos y se introducen en un envase metálico (lata), añadiendo almíbar de 40°Brix, que contiene 0,75% de ácido cítrico, y dejando un espacio de cabeza de 7,9 mm. Mediante vapor o agua caliente se eleva la temperatura a 71°C, se cierran las latas y se introducen en agua hirviendo hasta que el producto alcance una temperatura de 90,6°C. A continuación, las latas se enfrían rápidamente a 37,8°C (Chan, 1983).

* Papaya congelada.

La papaya, como ya se ha indicado, puede magullarse con facilidad y su cavidad central está llena de pequeñas semillas que habría que eliminar antes de la congelación. Era necesario por tanto, diseñar un aparato que, sin dañar el fruto, pele y remueva las semillas. Chan, (1977) diseñó un método para eliminar las semillas introduciendo un chorro de agua a través de un orificio realizado en el fruto, de manera que las semillas salen por otro hueco practicado en la parte posterior del mismo. La congelación se llevó a cabo utilizando túneles de congelación a -40°C , inmersión en una solución de cloruro sódico y etanol a -23°C , fluidos criogénicos...

Cuando la papaya se procesa en forma de puré, se origina una considerable gelificación de origen enzimático que, al progresar ocasiona el desarrollo de malos olores y sabores. Brekke y col. (1973), desarrollaron un procedimiento para evitar, que al realizar este tipo de procesado, se indujeran estos cambios enzimáticos así como la modificación del sabor-olor del producto procesado. Este procedimiento consiste en minimizar la ruptura de las semillas durante las etapas previas a la fabricación de puré, con lo que disminuye la salida de la mirosinasa y su sustrato bencilglucosinolato, evitándose el desarrollo de malos sabores. Por otra parte, para inactivar la pectinmetilesterasa, que es la responsable de la gelificación, el puré nada más fabricarse se acidifica con ácido cítrico hasta pH 3,5, con lo que se consigue, además la inhibición del crecimiento de microorganismos. El puré así fabricado está desprovisto de malos olores y sabores, y no se forman geles durante el almacenamiento en estado congelado, tiene menor carga microbiana y posee menos partículas de semillas. Otros autores han utilizado técnicas de procesado aséptico, mediante el empleo de un intercambiador de calor que

esteriliza el puré (Chan y Cavaletto, 1982).

El proceso de elaboración de concentrados de papaya consiste en despectinizar primeramente el puré, adicionando una enzima pectinolítica para reducir la consistencia y a continuación concentrarlo en un evaporador a vacío (Chan y col., 1979).

Los zumos, néctares, y otras bebidas se formulan básicamente añadiendo agua, edulcorantes y acidulantes al puré o pulpa de papaya.

1.5. CONGELACION DE FRUTAS.

1.5.1. OPERACIONES PREVIAS AL PROCESO DE CONGELACION.

Las materias primas destinadas a convertirse en alimentos conservados por congelación deben disponerse y prepararse tecnológicamente antes de someterse a este procesado. Estas operaciones previas son:

* Clasificación. La materia prima se ordena de acuerdo con determinados criterios de calidad.

* Calibrado.

* Limpieza o enjuagado. Eliminación de impurezas minerales, suciedades orgánicas...

* Pelado, deshuesado y troceado. Eliminación de porciones vegetales no comestibles o de inferior valor. El pelado puede realizarse por métodos mecánicos, térmicos, químicos y mixtos.

Para preservar las características sensoriales de las frutas frescas (textura, color, aroma y sabor), que son las más valoradas por el consumidor, existen algunos procesos previos a la congelación:

* Escaldado.

Consiste en someter el producto a un tratamiento térmico, inactivando sistemas enzimáticos causantes de las alteraciones de calidad, que actúan durante el almacenamiento del producto congelado. Además reduce la posibilidad de oxidaciones al eliminar el oxígeno ocluido en los tejidos y mejora la calidad higiénica de los productos, disminuye los residuos de pesticidas y microorganismos no esporulados. Se utiliza en hortalizas y frutas con fines industriales. Sin embargo no se emplea en frutas destinadas al consumo directo porque se produce una notable disminución de la firmeza, alteración del aroma y sabor, y pérdidas nutricionales, bien por lixiviación de las sustancias solubles o por la destrucción de compuestos termolábiles.

* Edulcorado.

Consiste en una inmersión de los trozos de fruta en un jarabe, normalmente de sacarosa, provocando por diferencia osmótica, la salida de

agua desde el tejido vegetal a la solución, llenando los espacios intermedios libres, con lo que se aísla el producto de la acción del oxígeno atmosférico, y por tanto, reduciendo la posibilidad de oxidaciones. Además, los jarabes se oponen físicamente a la pérdida de aroma, refuerzan el sabor de las frutas y disminuyen la cantidad de agua presente en el tejido con lo que pueden, en ocasiones, mejorar la textura. La concentración del jarabe a utilizar varía en función de la fruta considerada; 30-40 °Brix para cerezas, peras y ciruelas, 40-50 °Brix para plátanos y manzanas, 40-60 °Brix para fresas, melocotones y albaricoques (Philippon, 1975).

* Empleo de aditivos.

El hecho de que la mayoría de las frutas no puedan ser escaldadas, para inactivar las enzimas responsables del pardeamiento y degradación de los pigmentos, implica recurrir a la utilización de aditivos químicos (ácido ascórbico 0,1-0,3%, ácido cítrico 0,5-1,0%, anhídrido sulfuroso 60-80 ppm o cloruro de estaño II 100-200 ppm) para que conserven un color semejante al de las frutas frescas (Gruda y Postolski, 1986).

Se ha ensayado el empleo de pectinas y alginatos para mejorar la firmeza de las frutas congeladas, pero los resultados obtenidos no han sido demasiado buenos.

1.5.2. PROCESO DE CONGELACION.

El proceso de congelación consiste en un enfriamiento del producto hasta que todos sus puntos tengan una temperatura inferior al punto de

congelación del tejido (Instituto del Frío, 1986). En la práctica, se considera que el alimento está congelado cuando la temperatura en su centro térmico es inferior a -10°C .

La temperatura de congelación de un alimento depende de la concentración de solutos (sólidos solubles), especialmente azúcares, sales y ácidos. La temperatura a la que congela un tejido, es inversamente proporcional al contenido en sólidos solubles. Dado que el contenido de una célula vegetal es complejo, no es posible definir un único punto de congelación, sino que se establecen una serie de puntos eutécticos, que van a ser las temperaturas a las que cada componente o mezcla de ellos congelará. La temperatura de congelación del agua es sólo el primero de estos puntos, aunque sea el más importante por ser el componente mayoritario en las frutas. Será necesario, por tanto, tener en cuenta la formación de cristales que se produce al congelar. El proceso de cristalización se produce en dos fases que transcurren casi simultáneamente: la nucleación y el crecimiento de los cristales. La formación de estos cristales de hielo produce un daño irreversible en la estructura de los tejidos vegetales (Reeve y Brown, 1966; Brown, 1979). La localización y el tamaño de los cristales de hielo depende de la velocidad de congelación.

Los daños que origina una congelación no adecuada pueden ser mecánicos, al producirse un aumento de volumen al congelarse el agua, que desgarrar y fragmenta la membrana y químicos que derivan de la concentración de solutos, que se origina al quedar la mayoría del agua intracelular

congelada, originándose cambios en el pH, oxidación de lípidos...(Reid, 1993).

Por otra parte, la pérdida de agua de los sistemas bioquímicos supone un desequilibrio, que no se reemplaza totalmente con la descongelación. Las membranas celulares sufren una modificación en la permeabilidad y en su elasticidad, debido a que las soluciones coloidales de las mismas quedan irreversiblemente deshidratadas (Fennema y Powerie, 1964). Como consecuencia de esta deshidratación, se produce una disminución en la rigidez del producto congelado y una pérdida irreversible de fluido (exudado) tras la descongelación.

La intensidad de los daños que la congelación produce sobre la pared celular depende no sólo de la estructura celular de la fruta considerada, sino también de la velocidad de congelación.

Desde un punto de vista físico, los tejidos vegetales pueden considerarse como soluciones acuosas diluidas. Al enfriar el alimento por debajo de 0°C, el hielo comienza a formarse (temperatura crioscópica o comienzo de la congelación), que es además la temperatura característica de fusión (temperatura a la que funde el último cristal de hielo en una descongelación suficientemente lenta). La temperatura de comienzo de la congelación depende en gran medida de la concentración molar de las sustancias disueltas y no de su contenido en agua.

Una vez que el agua ha comenzado a congelar, la cristalización es función de la velocidad de enfriamiento y de la velocidad de difusión del agua a partir de las disoluciones o geles que bañan la superficie de los cristales de

hielo.

Cuando se realiza una congelación lenta, los primeros cristales se forman en los espacios intercelulares, el agua se condensa y aparecen los primeros núcleos de cristalización. Como consecuencia del gradiente de presiones que se crea entre la célula y estos cristales de hielo extracelulares, se origina una difusión de agua del interior al exterior de la célula, donde el tamaño de los cristales crece progresivamente. Esta pérdida de agua tiene como consecuencia directa una concentración de solutos en el fluido celular, aumentando la temperatura de la fase no congelada, haciéndose más difícil la formación de núcleos de cristalización intracelulares. El crecimiento de los cristales intercelulares produce una separación progresiva de las células y como consecuencia una plasmólisis del protoplasma celular, con ruptura total en algunas ocasiones.

Si la velocidad de congelación del tejido vegetal es rápida, es decir si se alcanza la temperatura de congelación del líquido intracelular antes de que su concentración disminuya por difusión del agua, se produce una nucleación de cristales dentro y fuera de la célula, que da lugar a un gran número de cristales, intra y extracelulares, y que además son de reducido tamaño.

La utilización de una velocidad de congelación rápida conlleva una serie de ventajas:

* Firmeza semejante a la del producto fresco.

* Mayor estabilidad bioquímica y nutricional durante la conservación al estado congelado del producto.

* Sensible reducción de exudado.

Las frutas por su alto contenido en agua y sensibilidad a los cambios en la firmeza requerirán la utilización de congelaciones ultrarápidas, pues una congelación lenta conduciría a una excesiva ruptura de las paredes celulares, con el consecuente ablandamiento de tejidos y una gran cantidad de exudado al ser descongelado.

El proceso de congelación termina cuando la mayor parte del agua congelable se transforma en hielo en el centro térmico del producto. Para la mayoría de los productos, la temperatura del centro térmico coincide en ese momento con la temperatura de almacenamiento.

Independientemente de las ventajas e inconvenientes que podamos encontrar con la utilización de los diversos procesos y métodos de congelación, los frutos destinados a esta transformación tecnológica deben presentar como principales características: a) excelentes cualidades organolépticas, b) textura inicial firme, así como tras la aplicación de los pretratamientos de congelación, c) mínima tendencia al pardeamiento, y d) adecuado grado de madurez. Es impensable que se pueda obtener un buen resultado del proceso, partiendo de una materia prima deficiente.

1.5.3. MODIFICACIONES DE LA CALIDAD DURANTE LA CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO.

De manera general, durante el almacenamiento los productos sufren una pérdida gradual de la calidad, acumulativa e irreversible, que resulta de los distintos efectos individuales o combinados de las modificaciones físicas, físico-químicas, químicas o bioquímicas.

1.5.3.1. CAMBIOS FISICOS.

Los cambios físicos que afectan a la calidad de frutas congeladas durante su conservación, tienen que ver con los fenómenos de recristalización y sublimación, relacionados con la estabilidad de los cristales de hielo formados en el interior o en la superficie de los tejidos durante la congelación del producto.

Si durante la conservación hay fluctuaciones de temperatura, pueden fusionarse parcialmente los cristales de hielo, y al descender de nuevo la temperatura se formarán cristales de mayor tamaño que en la descongelación del producto producirán un gran exudado (Calvelo, 1981). Esto provoca que se pierdan las ventajas que tiene una congelación rápida cuando se aplica a frutas (Jul, 1984).

La humedad que existe sobre la superficie de una fruta congelada (95%-99,5%) es siempre mayor que la del lugar de almacenamiento, creándose un

intercambio de humedad entre el alimento y el medio en el que se encuentre. Para evitar la desecación de la fruta, se recurre a utilizar envases de baja permeabilidad al vapor de agua ($<1 \text{ g/m}^2/24 \text{ h}$ a -20°C) (Gruda y Postolski, 1986). Además el envase debe envolver completamente el producto para evitar que en los espacios intermedios llenos de aire, se establezcan diferencia de presiones parciales que provoquen la difusión del vapor de agua. Por esta razón, se utiliza cada vez más el envasado a vacío que envuelve perfectamente las frutas evitando su desecación. Una desecación excesiva del producto provoca pérdidas de peso, aceleración de los cambios oxidativos en la superficie del producto, produciéndose una quemadura del producto o "Freezer burn".

1.5.3.2. CAMBIOS QUIMICOS Y BIOQUIMICOS.

Durante la conservación de frutas congeladas, pueden ocurrir reacciones químicas, enzimáticas o no, que son especialmente importantes por su influencia en la calidad final del producto congelado. Estas reacciones están asociadas con la aparición de olores y sabores extraños (off-odors, off-flavors), cambios de color debidos a la degradación de pigmentos y pardeamientos, y pérdida nutricional por reacciones de oxidación. Estas posibles vías degradativas del producto congelado serán estudiadas con mayor profundidad en la discusión de los resultados de la presente Tesis Doctoral.

La velocidad de una reacción depende de la constante de velocidad de reacción (k), la concentración y del orden de reacción. De estos tres factores, sólo K depende de la temperatura, por lo tanto la velocidad de reacción oscilará con la temperatura de la misma forma que lo hace K (Ecuación de

Arrhenius).

$$\ln K = \ln A - \frac{E_a}{RT}$$

$$K = A \cdot e^{-\frac{E_a}{RT}}$$

K : Cte. de velocidad de reacción. A : Factor de frecuencia.

R : Cte. de los gases.

Ea : Energía de activación.

T : Temperatura.

Al descender la temperatura de los tejidos , se produce una disminución de la velocidad a la que se desarrollan las reacciones químicas. En las reacciones no enzimáticas existe una relación logarítmica entre la velocidad de reacción y la temperatura a la cual tiene lugar. Esta reacción puede también darse en reacciones enzimáticas cuando éstas se desarrollan a temperaturas inferiores a las necesarias para producir la desnaturalización térmica del enzima.

Cuando las reacciones son enzimáticas, las temperaturas por debajo del punto de congelación, hacen que disminuya la constante de la reacción. Si las reacciones son no enzimáticas la velocidad de reacción es mayor en estado congelado que a temperaturas superiores al existir mayor concentración de los reactivos de la fase líquida remanente, producida por la formación de cristales

de hielo. Sin embargo a temperaturas por debajo del punto de congelación, este efecto se ve compensado por el fuerte descenso de la velocidad de reacción y comienza por lo tanto, a disminuir la constante de reacción observada.

Otro efecto de la temperatura sobre la cinética de las reacciones químicas es un cambio en el orden de reacción. Tras la congelación, la modificación en la concentración de los reactivos puede hacer que se modifique el factor limitante de la velocidad de reacción (Zeuthen y col., 1983).

Asimismo, algunas de las alteraciones químicas pueden ser debidas a la disminución en la actividad de agua (a_w) del tejido. Por una parte, retrasa el crecimiento de microorganismos, se relantizan las reacciones enzimáticas, y se retarda el pardeamiento no enzimático; pero por otra, se acelera la velocidad de autoxidación de lípidos, aunque no tan importante como la que ocurre cuando el producto está deshidratado (Labuza, 1970).

1.5.3.3. FACTORES TIEMPO, TOLERANCIA Y TEMPERATURA (TTT).

Normalmente, como se ha expuesto hasta ahora, el descenso de la temperatura, lentifica las reacciones químicas, especialmente las que influyen sobre la calidad de los alimentos congelados. Para casi todos estos productos, la duración posible de almacenamiento aumenta cuando la temperatura de

conservación disminuye, al menos entre -25 y -40°C (Instituto Internacional del Frío, 1990).

El efecto combinado de ambos factores, tiempo y temperatura, determinan la tolerancia de los productos a la conservación en estado congelado. Estos factores son conocidos como los factores TTT (tiempo-temperatura-tolerancia).

Para cada alimento existe una correlación entre la temperatura de conservación en estado congelado y el tiempo a partir del cual se revela una pérdida determinada de calidad. Esta correlación se representa mediante coordenadas semilogarítmicas, de forma que la pendiente de la curva varía en función del alimento considerado. A partir de la pendiente de estas curvas TTT se puede calcular el efecto de la temperatura de conservación sobre la estabilidad del producto, utilizándose el factor Q_{10} , que indica cuantas veces se acrecienta el tiempo durante el cual el producto conserva su calidad cuando la temperatura disminuye 10°C . Este factor no depende sólo del producto sino también del criterio de calidad adoptado. Además, el Q_{10} no es constante en una larga gama de temperatura, la relación no es rigurosamente exponencial por debajo de -20 a -25°C , de ahí que los valores de este factor deban ir acompañados de la indicación del intervalo de temperatura a la cual se ha aplicado.

Se puede definir como conservación práctica de almacenamiento de un producto en estado congelado, como el período durante el cual el producto conserva sus propiedades características y es válido para su consumo directo o para la transformación a la cual se destina.

En la bibliografía también encontramos definido el término "conservación de alta calidad" o HQL (High Quality Life), que nos indica el tiempo que transcurre entre el momento en que se congela un producto de excelente calidad y el momento en que se detecta, por apreciación sensorial una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$), en relación con la calidad inmediatamente antes de la congelación. Este factor se determina a través de un panel de catadores que, en una prueba triangular, tienen que distinguir entre el producto y un control conservado a -40°C . Cuando un 70-80% de los catadores sean capaces de apreciar diferencias se habrá alcanzado la conservación de alta calidad (HQL) (Guadagni, 1969).

1.5.3.4. FACTORES PRODUCTO, PROCESADO Y ENVASADO (PPP).

Estos factores son determinantes para la calidad del producto, junto a la temperatura y duración del almacenamiento. En consecuencia una "curva TTT", sólo es válida para un determinado alimento congelado, con una determinada calidad de materia prima y un determinado procesado y envasado.

Cuando los productos se manipulan y mantienen en condiciones excepcionalmente buenas antes de ser preparados o congelados, su conservación puede ser más prolongada en el tiempo. Esto nos indica que se debe seleccionar el cultivar y la madurez más adecuada.

Igualmente hay que seleccionar el proceso de congelación que menos

daño a nuestro producto, pudiendo incorporar ingredientes con acción antioxidante u otro efecto conservador, o recurrir al escaldado, glaseado, adición de jarabes...

La duración de conservación de un producto es tanto más larga cuanto más protegido esté contra la oxidación y la deshidratación. En el curso de los últimos años ha adquirido un interés creciente el embalaje a vacío, sobretodo para aquellos productos que se deterioran más rápidamente durante el almacenamiento frigorífico, pues el embalaje se adapta más a la superficie del producto.

1.5.4. DESCONGELACION.

La calidad de un producto en estado congelado puede alterarse si la descongelación no se realiza adecuadamente. La duración total de este proceso es el tiempo necesario para que la temperatura de un producto evolucione de su nivel inicial, estado congelado, hasta aquel en que no quede nada de hielo en el producto. Se considera que la descongelación ha sido completa cuando la temperatura en el centro del producto alcanza los 0°C.

Las frutas enteras, con hueso, sin pelar o troceadas, congeladas sin la adición de antioxidantes, en el proceso de descongelación pueden pardear rápidamente si su contenido en polifenoloxidasas es muy elevado, como es el caso del plátano, manzana... En este caso los hornos-túneles de microondas

tienen un porvenir de uso ventajoso, a pesar de su elevado precio, porque reducen mucho el tiempo de descongelación (Instituto Internacional del Frío, 1990).

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS.

En los últimos años, el cultivo de papaya (*Carica papaya*, cultivar Sunrise), se ha incrementado notablemente en ciertas zonas de Hawái, México, España (Islas Canarias)... Sin embargo, la susceptibilidad que presentan estos frutos durante el transporte limita seriamente sus posibilidades de comercialización.

Como ya se describió en la introducción, existen distintos estudios realizados con objeto de alargar la vida comercial de este fruto, como el empleo de atmósferas modificadas, radiaciones ionizantes... Estas técnicas han tenido hasta el momento un éxito muy relativo, por lo que el estudio de otros procesos que aumenten la conservación y mantengan la calidad nutritiva y las características sensoriales, durante períodos de tiempo suficientemente largos, son de gran interés a nivel científico e industrial. Este tipo de procesos facilitarían las exportaciones y la comercialización de frutos a lo largo de todo el año.

Además, la papaya está adquiriendo cada vez mayor auge por su alto contenido en provitamina A y vitamina C y por ser una de las frutas más hipocalóricas. Estas cualidades hacen que su ingestión sea recomendada en regímenes dietéticos, ya que según recientes estudios tiene la cualidad de retirar radicales libres actuando como protector anticancerígeno. A todo esto hay que añadir su atractivo color y su sabor exótico.

Los objetivos principales en el presente trabajo de investigación fueron:

- * Determinar la evolución de los índices de calidad y madurez de frutos de papaya hermafrodita y hembra durante su conservación frigorífica.
- * Conocer la aptitud de los frutos de papaya hembra (no comerciales) al procesado por congelación.
- * Establecer la relación entre los enzimas oxidativos (peroxidasa y polifenoloxidasas) y las modificaciones de la calidad del producto congelado y conservado durante tiempos prolongados.

Como objetivos secundarios se plantearon:

- * Caracterizar los enzimas peroxidasa y polifenoloxidasas en frutos de papaya hermafrodita y hembra, durante su conservación en fresco, así como el posible efecto que el proceso de congelación y conservación en estado congelado origina sobre las mismas.
- * Identificar los compuestos carotenoides de papaya hermafrodita y hembra responsables de su color y que forman parte importante del valor nutricional de estos frutos, estableciendo su evolución durante la maduración y los efectos del proceso de congelación.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. MATERIAL VEGETAL.

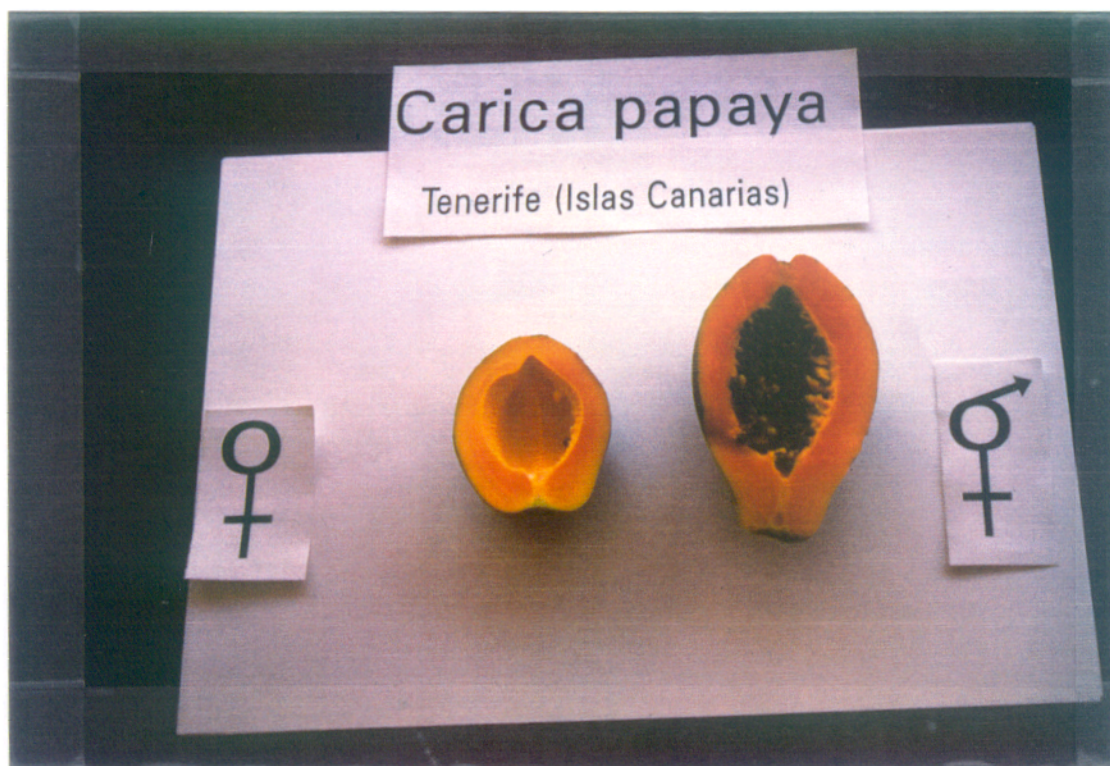
El material vegetal utilizado en este estudio, estaba constituido por frutos de Papaya (*Carica papaya*), cultivar Sunrise grupo Solo, procedentes de Tenerife, Islas Canarias.

Estos frutos fueron recolectados manualmente de plantas hembras y hermafroditas una vez alcanzada su madurez fisiológica.

Como se aprecia en la Fotografía 6, los frutos hembras se caracterizan por ser redondeados y más pequeños que los hermafroditas. En las muestras utilizadas en el presente trabajo de investigación, el peso medio de los frutos hembras fue 203,27 g mientras que el de los hermafroditas alcanzó los 450,13 g.

La piel de ambos frutos era fina de color anaranjado con zonas verdes y amarillas. La pulpa era de color naranja siendo más brillante la del fruto hermafrodita.

Cuando se corta el fruto longitudinalmente, se observa que la cavidad central del fruto hembra es hueca, con pocas semillas en su interior. Sin embargo, la cavidad central del fruto hermafrodita está cubierta casi en su totalidad por semillas que son de mayor tamaño y color negrozco, Fotografía 6.



Fotografía 6: Frutos de papaya hermafrodita y hembra seccionados longitudinalmente.

*** Procedencia de los frutos.**

Los frutos utilizados en las dos campañas, 1993/1994 y 1994/1995, procedían de la misma plantación (invernadero), según se muestra en la Fotografía 7, sita en el término municipal de Las Galletas, al sur de la Isla de Tenerife (Islas Canarias).



Las técnicas de post-recolección previas a la conservación frigorífica de los frutos consistieron en el transporte, selección y acondicionamiento en los envases de ensayo.

*** Recolección y transporte.**

La recolección practicada en las dos campañas 1993/1994 y 1994/1995 se realizó de forma manual y en una única fecha; 10 Julio 1993 y 15 Julio 1994.

El transporte se realizó en avión, para evitar el calentamiento excesivo de los frutos, no excediendo de 10 a 12 horas el intervalo de tiempo desde la recolección y la recepción de los mismos en los Laboratorios de Madrid.

*** Selección y acondicionamiento.**

Una vez recibidos los frutos en los Laboratorios del Instituto del Frío, en Madrid, se procedió a su manipulación para su selección y acondicionamiento.

La selección se realizó atendiendo a sus características externas: grado de desarrollo y madurez, calibre, color, manchas, deformaciones, heridas y estado sanitario.

Las cajas que constituían cada lote de ensayo, hembras y hermafroditas, se estibarón en la cámara frigorífica descrita en el apartado 3.2.

3.2. CONSERVACION EN ESTADO REFRIGERADO.

*** Condiciones frigoríficas de conservación.**

El tratamiento frigorífico de los frutos se llevó a cabo en una cámara del Instituto del Frío a una temperatura de 14°C y una humedad relativa de 90-95%. Estas condiciones de conservación se encuentra entre las recomendadas por Salunkhe (1984) para el almacenamiento frigorífico de estos frutos.

El sistema de enfriamiento es el de transmisión indirecta, actuando como fluido frigorífero una solución incongelable de agua glicolada. La circulación del aire de dichas cámaras de 12,5 m³ se realiza por convección

forzada mediante ventiladores incorporados en la batería de enfriamiento, capaces de proporcionar un coeficiente de recirculación comprendido entre 25 y 30.

* Composición de las muestras de frutos para el análisis de los índices de calidad y madurez.

Para la determinación de los análisis iniciales se separaron aleatoriamente diez frutos de entre los seleccionados para los ensayos.

En los análisis periódicos realizados durante el transcurso de la conservación frigorífica, se procedió de igual forma dentro de cada lote.

Las características iniciales de los frutos figuran en la Tabla IV (página 51).

3.3. PROCESADO DE LOS FRUTOS.

Una vez alcanzado el grado de madurez idóneo para su congelación, los frutos fueron lavados, secados y pelados. Las pulpas, se seccionaron longitudinalmente eliminándose las semillas. Posteriormente, los medios frutos, fueron cortados en rodajas de un tamaño uniforme (aproximadamente 50 x 35 x 15mm), prescindiéndose de aquellas zonas en las que no fue posible obtener rodajas de un tamaño homogéneo.

PARAMETROS		HERMAFRODITA	HEMBRA
PARAMETROS FISICOS			
FIRMEZA (N/g)		1,66	1,40
COLOR	L	32,96	34,12
	a	10,11	9,19
	b	19,53	20,00
PARAMETROS FISICO-QUIMICOS			
pH		6,41	6,17
ACIDEZ TOTAL ¹		0,10	0,09
SOLIDOS SOLUBLES (°Brix)		12,80	12,03
SOLIDOS TOTALES (%)		14,0383	15,9499
CONTENIDO EN AGUA (%)		85,9617	84,0502
PARAMETROS QUIMICOS			
CAROTENOS ²		12,18	10,26
PECTINAS (g/100 g prod,)		0,34	0,66
PARAMETROS BIOQUIMICOS			
PROTEINAS EXTRAIDAS		13,75	12,85
ACTIVIDAD POD ³		141,75	144,41
ACTIVIDAD PPO ³		126,51	109,62
ACTIVIDAD POD ESPECIFICA ⁴		10,31	11,24
ACTIVIDAD PPO ESPECIFICA ⁴		4,81	8,53

¹ (g ac. cítrico/100 g de producto)

² (µg/g producto expresado en equivalentes de β-caroteno)

³ (ΔDO/min/g producto)

⁴ (ΔDO/min/mg proteína)

Tabla IV: Características iniciales de los frutos de papaya hermafrodita y hembra antes de ser sometida al proceso de congelación.

El envasado se realizó, a vacío, en una envasadora Multivac Geprüfte Sicherheit, en bolsas Polyskin X, de 12 micras de espesor, polímero plástico complejo compuesto de una película de poliéster saranizado por una cara y por la otra de polietileno. Este polímero se caracteriza por su elevada barrera al oxígeno, gran termosoldabilidad y brillo excelente, además la mejora del poder de retracción biaxial aseguraba el efecto "segunda piel" en el producto.

Entre sus propiedades destacan:

- Permeabilidad al vapor de agua: 3,5 g/m²/24h a un 90 % de H.R.
- Permeabilidad al oxígeno: 5-6 cm³/m²/24h/atm. a un 85 % de H.R.
- Permeabilidad al anhídrido carbónico: 100 cm³/m²/24h/atm. a un 85 % de H.R.

Las bolsas tenían un tamaño de 30 x 20 cm y en cada una de ellas se introducía un peso aproximado de 250 g de producto.

A continuación, se congelaron en un túnel semi-experimental de aire forzado de Frigoescandia, con una velocidad de aire de 5,7 m/s a $-40 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 25 minutos aproximadamente, tiempo suficiente para que el centro térmico de las rodajas de papaya alcanzara una temperatura de -24°C , Fotografía 8.



Fotografía 8: Rodajas de papaya a la salida del túnel de congelación.

Las curvas de congelación se registraron en un registrador Yokogawa Electrofact modelo 3088 Hybrid Recorder, resultando análogas a la representada en la Figura 1.

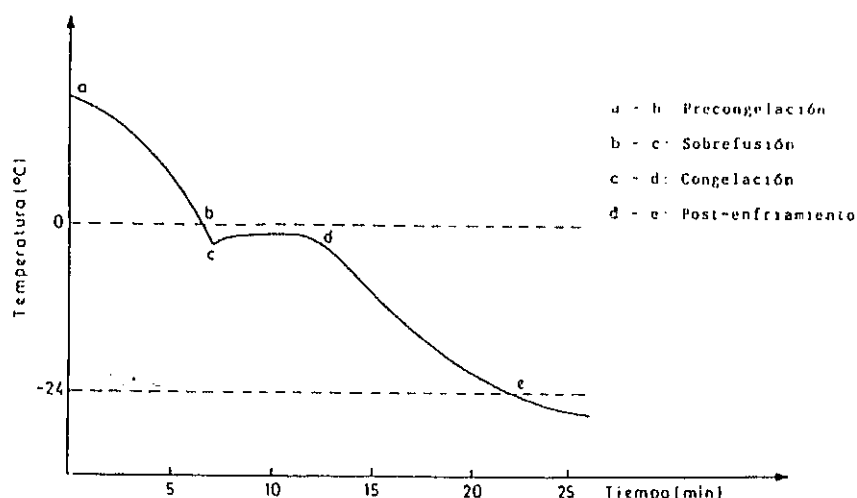


Figura 1: Curva de congelación.

3.4. CONSERVACION FRIGORIFICA EN ESTADO CONGELADO.

Las muestras congeladas y convenientemente etiquetadas, fueron almacenadas en un arcón congelador a una temperatura de -24°C . Esta temperatura es la recomendada por el Instituto Internacional del Frío (1986) para la conservación en estado congelado de ciertos frutos.

3.5. PREPARACION DE LAS MUESTRAS OBJETO DE ANALISIS.

3.5.1. DESCONGELACION.

La descongelación de las muestras se realizó colocando las bolsas de

producto congelado, sin abrir, en una cámara frigorífica a 4-5°C durante 2 horas, cubriéndolas para preservarlas de la luz.

3.5.2. OBTENCION Y CONSERVACION DE PRODUCTO LIOFILIZADO.

El fruto congelado en rodajas, se liofilizó mediante la utilización de un equipo Telstar s.a. modelo Lioalfa. El tiempo necesario para una liofilización completa fue de 48 horas. Las muestras liofilizadas se almacenaron en un arcón frigorífico a -24°C, para el posterior análisis de ciertos constituyentes (pectinas, proteínas, peroxidasa, polifenoloxidasa...).

3.5.3. CONGELACION CON NITROGENO LIQUIDO Y ALMACENAMIENTO A -80°C.

Para la realización de los análisis bioquímicos se realizó una congelación casi instantánea con nitrógeno líquido para asegurar la estabilidad de estos parámetros. La congelación de las muestras se realizó por inmersión, almacenándose en recipientes adecuados en un arcón congelador a -80°C.

3.6. DETERMINACIONES ANALITICAS.

Durante la conservación de los frutos tanto frescos como procesados, se llevaron a cabo las determinaciones analíticas, que en algunos casos (e.j.

firmeza) diferían en su metodología, como se describe a continuación.

3.6.1. PARAMETROS FISICOS.

3.6.1.1. FIRMEZA.

Para el control objetivo de la firmeza en los diferentes grados de madurez, frutos frescos, se realizaron ensayos de penetración con un penetrómetro Effe-gi, provisto de un punzón de 11 mm de diámetro y 10 mm de longitud de penetración. Los resultados obtenidos se expresaron en N.

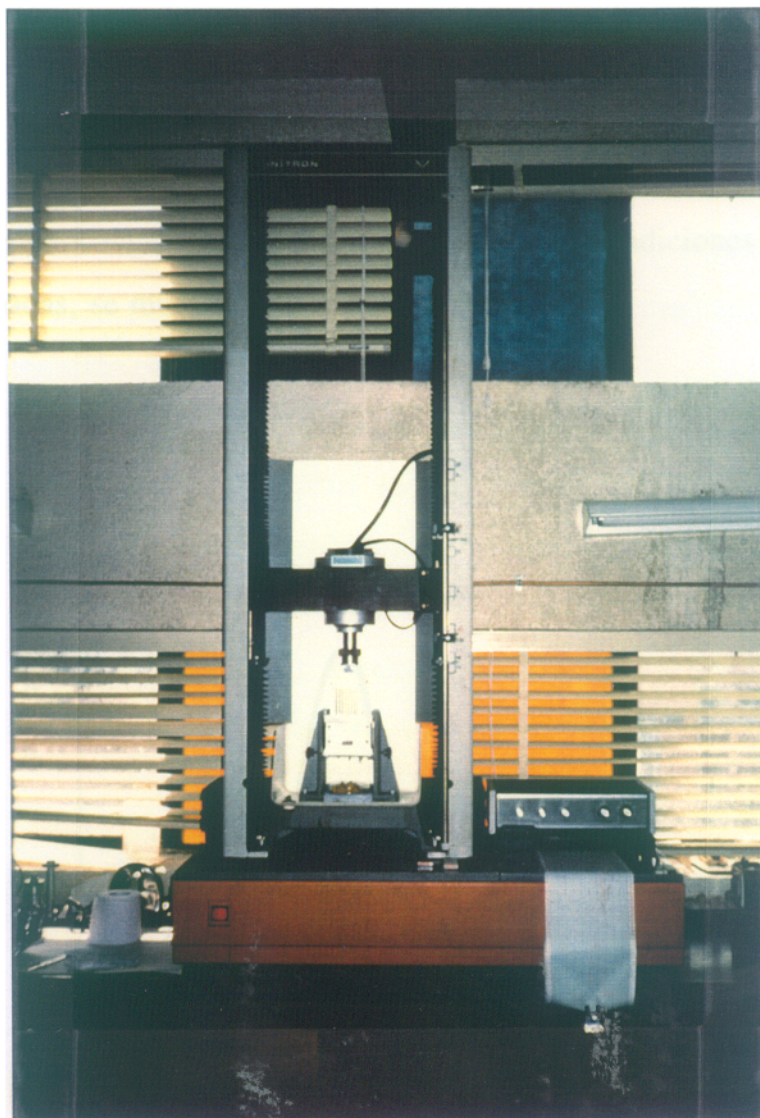
Para determinar la firmeza de los trozos congelados-descongelados, se empleó un Instron Food Testing Instrument, modelo 1140, que consta fundamentalmente de los siguientes componentes:

- un mecanismo para deformar la muestra de manera controlada.
- un sistema de registro de la fuerza, el tiempo y la deformación.
- una célula de ensayo en la que se coloca y deforma la muestra.

La medida de la firmeza se realizó tras adaptar a la célula de carga, una célula desarrollada por Kramer y col. (1951), Fotografía 9. Esta célula combina extrusión, compresión y fuerza de corte, de forma que se simula la masticación. La altura máxima de la curva obtenida, Figura 2, puede ser considerada como medida de la resistencia a la cizalladura (Touraille y Sale, 1977).

Se colocó un peso aproximado de 50 g de papaya en rodajas de espesor

uniforme, en el fondo de la célula de Kramer, de manera que formaran una superficie homogénea, realizándose el ensayo a continuación.



Fotografía 9: Instron Food Testing Instrument, modelo 1140 con la célula de Kramer adaptada.

Los parámetros de medida empleados fueron:

- Velocidad del cabezal: 400 mm/min.
- Velocidad de la carta de registro: 100 mm/min.

- Célula de carga: 5-50 Kg.
- Rango: 50 Kg.

Los resultados obtenidos se expresaron en N/g de producto fresco.

La curva representativa de la medida objetiva de la firmeza registrada por el Instron Food Testing Instrument, bajo las condiciones anteriormente mencionadas, se muestra en la Figura 2.

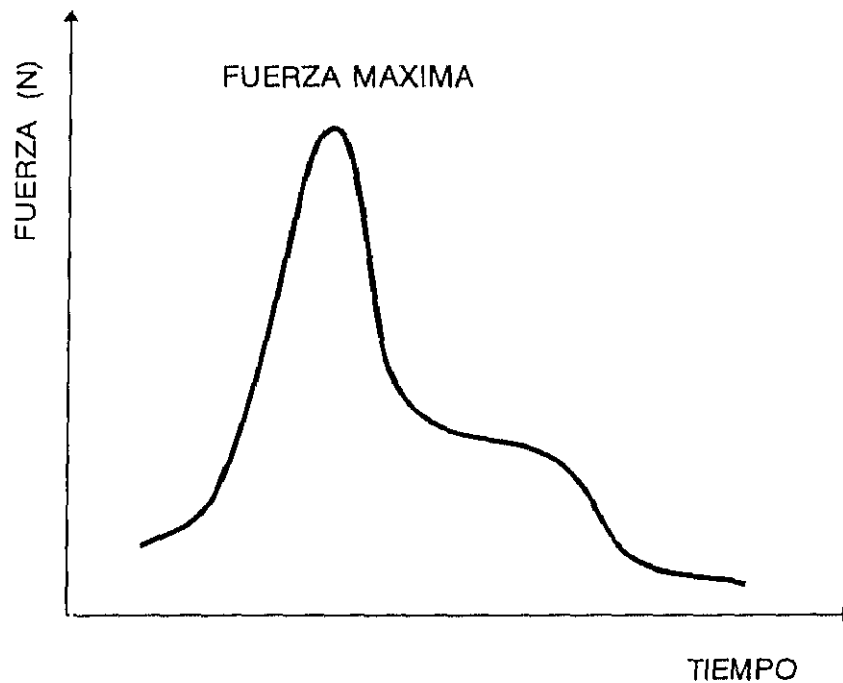


Figura 2: Curva representativa de la medida objetiva de firmeza.

3.6.1.2. COLOR.

La medida objetiva de color de la pulpa de papaya homogeneizada se realizó en un colorímetro diferencial Hunterlab Tristimulus Colorimeter, modelo D 25 A-9, con reductor, que se calibraba previamente con una placa negra con la que se hacía el cero y otra de referencia de color blanco ($X=82,51$, $Y=84,53$, $Z=101,23$), a la que se adjudicó el valor máximo de luminosidad. La pulpa homogeneizada se introdujo en una cápsula de plástico, de 5 cm de diámetro x 2 cm de altura.

Los resultados obtenidos se expresaron con las coordenadas, L (luminosidad), a (tonalidad verde-rojo) y b (tonalidad azul-amarillo). De estos valores derivan las funciones Hue (h), coeficiente de saturación (C) y diferencia de color total (ΔE), siendo: $h = \arctan(b/a)$; $C = [(a^2 + b^2)]^{1/2}$ y $\Delta E = [(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2]^{1/2}$.

3.6.1.3. EXUDADO.

El volumen de exudado liberado por gramo de peso fresco se determinó dejando descongelar una cantidad conocida de muestra en una cámara frigorífica a 4-5°C durante dos horas, midiéndose posteriormente el volumen de líquido secretado por el producto.

Se expresa como ml/100 g de producto.

3.6.2. PARAMETROS FISICO-QUIMICOS.

3.6.2.1. pH.

El pH de las diferentes muestras se determinó con un pH-metro CG-837 Schott Geräte, combinado con un electrodo de pH N1042A con sensor de temperatura integrado. Un peso aproximado de 10 g de producto en pulpa se homogeneizaron con 20 ml de agua destilada. La mezcla se calentó hasta ebullición. A continuación se añadieron otros 20 ml de agua destilada al homogeneizado y una vez enfriado a 20°C se midió el pH.

3.6.2.2. ACIDEZ TITULABLE.

La acidez titulable se determinó por neutralización con NaOH 0,1N, del homogeneizado del apartado anterior. Se consideró finalizada la valoración cuando el valor del pH, alcanzó 8,1. Para hacer más cómoda y rápida la determinación se utilizó una bureta automática Metler DV 250.

Los resultados se expresaron como mg de ácido Cítrico/100 g producto.

3.6.2.3. SOLIDOS SOLUBLES.

Los sólidos solubles, expresados como extracto refractométrico en grados Brix (°Brix) a 20°C, se midieron en las pulpas homogeneizadas, empleando un refractómetro digital Atago dbx-30 con corrección automática de temperatura.

El resultado se expresó como extracto refractométrico en °Brix a 20°C.

3.6.2.4. SÓLIDOS TOTALES Y CONTENIDO EN AGUA.

La determinación de los sólidos totales se realizó según el método n° 22018 de la AOAC (1990), modificado mediante el empleo de un horno microondas Toshiba ER-6860 sw, a 200 w de potencia durante 30 minutos.

El resultado se expresa en gramos de residuo seco por 100 g de peso fresco.

El contenido en agua del producto se calculó a partir del valor obtenido para los sólidos totales y se expresa en g de agua por 100 g de peso de producto fresco.

3.6.3. PARAMETROS QUÍMICOS.

3.6.3.1. CAROTENOIDES.

La separación, identificación y cuantificación de los compuestos carotenoides, se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE).

*** Extracción.**

La extracción de las muestras se realizó según un método modificado

de Bushway y Wilson, (1982).

Para realizar los análisis, los frutos se lavaron, pelaron y después de eliminar las semillas, se trocearon.

A 30 g de muestra (mezcla de un troceado de varios frutos), se añadieron sulfato sódico y carbonato magnésico (200% y 10% del peso de la muestra, respectivamente) y 100 ml de tetrahidrofurano (THF) estabilizado con hidroxitolueno butilado (BHT) (0,01 %). La mezcla se homogeneizó en un Omni-mixer con baño exterior de hielo, en total oscuridad y en atmósfera de nitrógeno, para impedir la degradación y las isomerizaciones *cis-trans*. El extracto se filtró a vacío con papel Whatman nº2 lavando varias veces con, THF, hasta que el residuo quedó sin color. A continuación, el filtrado se concentró en un rotavapor a 35°C, hasta 10 ml, y posteriormente se añadieron 50 ml de una solución de diclorometano-agua a partes iguales. La fase orgánica se separó mediante embudo de decantación lavándose varias veces con agua (salmuera 3 x 50 ml). Las aguas de lavado, se unieron y se extrajeron con diclorometano (3 x 50 ml), hasta que la fase acuosa quedó incolora. Las fases orgánicas, se reunieron y se secaron con sulfato sódico anhidro. Después de filtrar las sales, y antes de evaporar la fase orgánica hasta sequedad, se añadieron al extracto entre 0,05 a 0,07 mg de patrón interno, Sudán I (1-fenilazo-2-naftol). El residuo así obtenido se redisuelve en diclorometano para CLAE (0,3 ml) y se inyecta directamente en el cromatógrafo (20µl).

* Saponificación.

La saponificación se realizó con 50 ml del extracto en diclorometano y 1,4 ml de hidróxido potásico en metanol al 30% bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 6 horas. La solución se introdujo en un embudo de decantación añadiendo éter y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, quedando separada la fase orgánica. La fase acuosa, se extrajo con éter y las fases orgánicas se reunieron, lavándose varias veces con agua hasta que se eliminó por completo el hidróxido potásico, (pH 7,0). La fase etérea se secó (Na_2SO_4), se filtró, se eliminó a vacío, y el residuo se disolvió en el solvente apropiado para el análisis cromatográfico (CLAE).

* Equipo de cromatografía.

Se utilizó un Cromatógrafo de Líquidos de Alta Eficacia de Hewlett-Packard modelo 1050 con un sistema cuaternario de entrada de disolventes, equipado con un detector de UV/VIS de diodos modelo Hewlett-Packard 1040A.

- Los datos obtenidos se almacenaron y procesaron en un ordenador Hewlett-Packard 9000/300.
- Las separaciones se realizaron con dos columnas en serie de acero inoxidable de Hewlett-Packard (10 cm x 4,6 mm i.d.) Hypersil ODS (partículas esféricas de 5μ), protegido con un cartucho Hibar (3 cm de largo x 4,6 mm i.d.) empaquetado con Sherishorp- C_{18} (5μ de tamaño de partícula).

- La separación analítica se realizó de acuerdo con el procedimiento empleado por Cano (1991), con pequeñas modificaciones.

Se utilizó un gradiente realizado con Metanol/agua (75:25) como eluyente A y acetato de etilo como eluyente B, empezando a tiempo 0 hasta tiempo 10 minutos, con una composición semifinal del eluyente B del 70%. La composición del disolvente en gradiente se sigue desde tiempo 10 minutos hasta 20 minutos con una composición final del eluyente B del 100%. La velocidad del flujo empleada fue de 1 ml/min, y el barrido cromatográfico se monitorizó a 450 nm. Al final del gradiente la columna se reequilibró hasta conseguir las condiciones iniciales con un nuevo gradiente desde tiempo 20 hasta tiempo 30 minutos, con una composición final de eluyente B del 100% y con la misma velocidad de flujo (1 ml/min).

* Separación e identificación.

Las xantofilas se separaron e identificaron según el procedimiento descrito por Cano (1991) y Cano y Marín (1992) en kiwi. Los extractos se separaron por cromatografía sobre placa semipreparativa (20 x 20 cm, 200 μ m de espesor: gel de sílice 60F 254 Merk, Darmstadt, W. Germany) bajo una corriente continua de nitrógeno utilizando una solución que contenía éter de petróleo y acetona al 50%. Las placas se introdujeron en el solvente y se dejaron evolucionar durante una hora y media en oscuridad y a temperatura ambiente. Las bandas se raspan de la placa y se extraen en el solvente adecuado para la posterior purificación en CLAE.

El procedimiento que se utilizó para la separación e identificación de

los compuestos carotenoides fue la Cromatografía Líquida de Alta Eficacia en fase reversa. El sistema operativo Hewlett-Packard 9000/300 nos permitió analizar la pureza de los picos por su espectro de absorción en UV/Visible.

Los carotenoides se identificaron por comparación de los tiempos de retención en CLAE y los máximos de absorción en UV/VIS de carotenos comerciales o previamente aislados de otros frutos Cano (1991), con los separados en los extractos de papaya. Asimismo, el espectro máximo de cada pico se comparó con aquellos encontrados en la literatura Köst (1988). Algunos grupos funcionales presentes en las estructuras de los carotenos se identificaron mediante reacciones químicas específicas: conversión del 5,6-epóxido en 5,8-furano en medio ácido, acetilación de grupos hidroxilo libres y reducción de grupos cetona con borohidruro sódico, (Davies, 1976 y Liaaen-Jensen, 1971).

* Cuantificación.

El análisis cuantitativo por CLAE se realizó utilizando sudán I como patrón interno. Los análisis se realizaron por duplicado inmediatamente después de la extracción para evitar degradaciones e isomerizaciones. Cada uno de los picos separados fueron cuantificados como equivalentes de β -caroteno. Para la cuantificación se utilizó el área de los picos registrados a 450 nm.

La cuantificación se realizó calculando el factor de respuesta (f_r) del β -caroteno con respecto al patrón interno (sudán I).

Se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Peso X} / \text{Peso P.I.} = f_x \text{ área X} / \text{área P.I.}$$

P.I. Patrón interno (sudán I).

X β -caroteno.

f_x Factor respuesta.

En estos ensayos se empleó sudán I como patrón interno en lugar del β -apo-8 α -carotenal que es el patrón utilizado con más frecuencia, debido a que interfería menos en la separación.

3.6.3.2. ACIDOS ORGANICOS.

Para la determinación de los ácidos orgánicos mayoritarios (ácidos Oxálico, Cítrico, Galacturónico, L-Málico, Quínico, Succínico y Fumárico) se empleó la Cromatografía Líquida de Alta Eficacia, según describe Cano y col., (1994).

* Preparación de las muestras.

10 g de pulpa de papaya se homogeneizaron en un Omnimixer con 50 ml de metanol, calentándose a continuación la mezcla a reflujo durante 15 minutos. Una vez enfriado el homogeneizado, se filtra a vacío y el extracto metanólico resultante se evapora a sequedad en un rotavapor. El residuo obtenido se redisuelve en 50 ml de agua desionizada, y se pasa a través de una columna SEP-PACK C₁₈ previamente activada con metanol y agua, y posteriormente a través de un filtro Millipore AH de 0,45 μ m. El extracto así preparado se inyectó directamente en el cromatógrafo.

* Equipo de cromatografía.

El equipo empleado fue un cromatógrafo Hewlett-Packard, modelo 1040, compuesto por los siguientes módulos:

- Bomba-inyector Hewlett Packard 1050.
- Detector UV/Visible de diodos Hewllett Packard 1040A.
- Ordenador Hewlett Packard 9000/300 donde se almacenan y procesan datos.
- Columna Ion-300 de Interaction, de acero inoxidable de 300 mm de largo y

6,5 mm de diámetro interno.

- Horno termostatzado CROCO-CII

* Condiciones cromatográficas.

- Fase móvil: Solución de ácido sulfúrico 0,0085 N en agua desionizada, pasada a través de un filtro Millipore AH 0,45 μm y degasificada en un baño de ultrasonido.

- Volumen inyectado: 20 μl tanto de muestra como de patrón.

- Flujo: 0,400 ml/min.

- Temperatura de la columna: 42°C obtenidos con un horno de termostatzación.

* Cuantificación de las muestras.

La cuantificación de los picos se llevó a cabo mediante comparación de áreas, por el método de patrón externo, una vez identificados los ácidos orgánicos presentes en las muestras.

3.6.3.3. PECTINAS TOTALES.

La determinación de las pectinas totales en las diferentes muestras, se realizó según Shacklady (1969).

*** Extracción.**

A 1 g de producto liofilizado se añadió 40 ml de etanol de 96°, introduciéndose posteriormente en un baño a 85°C durante 10 minutos y agitando la mezcla con una varilla de vidrio. Una vez enfriada la mezcla, se centrifugó a 5000 r.p.m. durante 15 minutos. Posteriormente, sobre el precipitado, libre del sobrenadante, se añadieron 40 ml de etanol al 80%, y se volvió a continuación a calentar a 85°C, dejando enfriar y centrifugando. Este proceso se repitió otras dos veces más.

El precipitado obtenido se resuspendió en agua destilada y se introdujo en un matraz aforado que contenía 5 ml de NaOH 1 N, aforando a 100 ml con agua. Se agitó, se dejó reposar 10 minutos y se filtró por gasa. (solución A).

* Determinación colorimétrica.

Para la determinación colorimétrica fue preciso diluir la solución A al 10%.

Se realizó una recta de calibrado con una solución patrón de ácido galacturónico monohidratado y un blanco para poder cuantificar las pectinas totales. La solución patrón se realizó pesando 120,5 g del ácido galacturónico monohidratado (secado durante 5 horas a vacío a 30°C) añadiendo 0,5 ml de NaOH 1 N y aforando a 1 l con agua destilada. Una vez agitada la solución y después de estar en reposo toda la noche, la concentración de dicha solución era de 100 μg de ácido galacturónico anhidro (AGA)/ml.

Se hicieron disoluciones de la solución patrón de forma que teníamos puntos cuya concentración oscilaba entre 10 y 70 mg de AGA/ml. Para realizar la colorimetría se introdujeron en tubos de ensayo 0,5 ml de cada uno de estos matraces, así como de la muestra (solución A), 0,1 ml de carbazol al 0,1% y 3 ml de ácido sulfúrico concentrado. Para el blanco se sustituyó el carbazol por etanol absoluto. A continuación se calentaron en un baño a 85°C durante 5 minutos. Una vez enfriados se leyeron las absorbancias en un espectrofotómetro, Perkin Elmer modelo Lambda 15, a 525nm.

El resultado se expresa como g de pectinas totales/100 g de producto liofilizado.

3.6.4. PARAMETROS BIOQUIMICOS.

3.6.4.1. OBTENCION DEL EXTRACTO ENZIMATICO.

En un Omni-mixer Sorvall 17106 con baño exterior de hielo se homogeneizaron 0,5 g del producto liofilizado con 20 ml de tampón fosfato 0,2 M pH 7,0 que contenía un 1 % de polivinilpolipirrolidona (PVP o PVP insoluble). El tiempo necesario fue de 3 minutos, a intervalos de 1 minuto de homogeneización y 1 minuto de reposo.

Posteriormente las muestras se centrifugaron en una centrífuga frigorífica, Sorvall RC-5B refrigerated superspeed centrifuge, a 18000 r.p.m. durante 30 minutos a 4°C.

El sobrenadante se filtró por gasa, determinando su volumen y se utilizó posteriormente para la determinación de proteínas, y actividades enzimáticas.

Para la elección del tampón de extracción y de lectura se ensayaron distintos pH, distinta fuerza iónica, distintas sales, presencia o no de Triton X-100...

3.6.4.2. DETERMINACION DE ACTIVIDADES ENZIMATICAS.

Las actividades enzimáticas de Peroxidasa (POD) y Polifenoloxidasa (PPO), se determinaron midiendo a 25 °C, las unidades por minuto y por gramo de producto, a una longitud de onda de 485 y 420 nm respectivamente, en un Espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer modelo Lambda 15, de las mezclas de reacción que se describen a continuación.

3.6.4.2.1. Actividad Peroxidasa.

En una cubeta de plástico se mezclaron: 2,7 ml de Tampón fosfato 0,05 M pH 6,5, 100 µl de Peróxido de Hidrógeno al 1,5% (v/v) y 200 µl de Parafenilendiamina al 1% (p/v) adicionándose 25 µl del extracto enzimático con lo que dio comienzo la reacción. Se determinaron las diferencias de absorbancia a 485 nm que se producen a lo largo del tiempo.

3.6.4.2.2. Actividad Polifenoloxidasa.

Se utilizó como mezcla de reacción para determinar la actividad polifenoloxidasa: 1,5 ml de Catecol 0,1 M en tampón fosfato 0,05 M pH 6,5, 1,5 ml de tampón fosfato 0,05 M pH 6,5 con 25 μ l del extracto enzimático. Las diferencias de absorbancia se determinaron a 420 nm.

Tanto los resultados de la actividad de Peroxidasa como de la actividad polifenoloxidasa se expresan como Δ DO/min/g de producto o bien como Δ DO/min/mg de proteína.

3.6.4.3. DETERMINACION DE LAS PROTEINAS EXTRAIDAS.

Para determinar la concentración de proteínas se siguió el Método colorimétrico desarrollado por Bradford (1976).

Al tiempo que se realizó la medida del contenido proteico en el extracto enzimático, se elaboró una recta patrón con seroalbúmina bovina (BSA). En la gráfica que se obtuvo representando la absorbancia a 595 nm frente a las

concentraciones conocidas de BSA, se extrapolaron las absorbancias determinadas en el extracto enzimático.

3.6.4.4. ANALISIS ELECTROFORETICO EN GELES DE BISACRILAMIDA.

El extracto enzimático se obtuvo siguiendo el procedimiento del apartado 3.6.4.1. pero concentrando más la muestra. Se homogeneizaron 0,9 g de producto liofilizado con 1 % de PVPP y 5 ml de tampón fosfato 0,2 M pH 7,0. El objetivo de esta determinación fue conocer el patrón isoenzimático de la Peroxidasa y de la Polifenoloxidasas, así como su patrón proteico.

Para realizar esta técnica se recurrió a la utilización de un sistema de electroforesis, Miniprotean II dual slab cell de BIO-RAD, que consta de unas células pequeñas (10 x 8,5 cm) donde se ubican los cristales con un separador de (0,75 mm) y de una fuente de energía, Constant Voltage Power modelo 1000/500 de BIO-RAD.

Se utilizaron geles de bisacrilamida al 10% realizándose según Laemmli (1970) pero en condiciones nativas (sin SDS).

3.6.4.4.1. Preparación de los geles de bisacrilamida.

* Gel de separación.

Este gel se preparó a partir de las siguientes soluciones Stock conservadas a 4°C en ausencia de luz.

(a) Bisacrilamida (30% T, 2,67% C) que está formada por:

Acrilamida 30% (p/v) + N,N bismetilenacrilamida 0,8% (p/v). Esta solución sólo es válida 1 mes.

(b) Tampón Tris-ClH 1,5 M pH 8,8.

(c) Tampón Tris-ClH 0,5 M pH 6,8.

(d) TEMED.

(e) Persulfato amónico 10% (p/v). Esta solución es la más lábil pudiendo ser utilizada durante 1 semana, como máximo.

En un matraz se mezclaron: 3,3 ml de la solución (a), 2,5 ml de la (b) y 4 ml de agua y se degasificó en ultrasonido durante 10 minutos. A continuación, se añadieron 50 µl de la solución (e) y 8 µl de (d). Una vez preparados los cristales con un separador de 0,75 mm se introdujo esta mezcla entre los cristales, utilizando una pipeta pasteur. Posteriormente se añade una

mezcla isobutanol/agua al 50% que pasados 45 minutos hay que retirar para evitar que el gel se deshidrate.

* Gel de carga.

En un matraz se mezclaron: 1,3 ml de la solución (a), 2,5 ml de la (c) y 6,1 ml de agua, degasificándose durante 10 minutos en ultrasonido. A continuación, se añadió 50 μ l de la solución (e) y 10 μ l de la (d). Posteriormente se eliminó la solución de isobutanol/agua que preservaba el gel y se lavó con agua. Se introdujo la solución del matraz entre los pocillos que deja el peine colocado sobre los cristales con una inclinación de 10-15° evitando la formación de burbujas. En estos pocillos que tardan en formarse aproximadamente 45 minutos se introducen las muestras.

3.6.4.4.2. Preparación de las muestras.

Se preparó una solución concentrada 5 veces que contenía tampón Tris-CIH 0,5 M pH 6,8 al 50% (v/v), glicerol al 50% (v/v) y azul de bromofenol

al 1 % (p/v), Solución (g).

En los pocillos se aplicaron 30 μ l de una solución formada al mezclar 800 μ l del extracto enzimático obtenido en el apartado 3.6.4.4. con 200 μ l de la solución que contenía el bromofenol (solución (g)).

3.6.4.4.3. Desarrollo de la electroforesis.

El Tampón de electrodo consistía en una solución de Tris base 15 g/l que contenía glicina en una concentración de 72 g/l. De esta solución almacenada a 4°C se toman 60

ml y se lleva a 300 ml con agua destilada.

La electroforesis se desarrolló en una unidad de electroforesis Miniprotean de BIO-RAD, utilizando una fuente de energía en la que se fijaron las siguientes condiciones para dos geles: 400 V, 70 mA y 70 Watt.

La electroforesis se desarrolló en un cuarto termostatzado a 4°C, con una duración aproximada de 30 minutos.

3.6.4.4.4. Revelado de los geles.

3.6.4.4.4.1. Proteínas extraídas.

Los geles se sumergieron alrededor de 30 minutos en una solución que contenía Metanol 40 % (v/v), ác. acético 10 % (v/v) y Coomassie Brilliant Blue R-250 1 % (p/v) utilizando un balancín, Rotaterm P. Selecta. A continuación, se introdujeron en una solución con la misma composición que la anterior a excepción del Coomassie Brilliant Blue R-250. Esta solución, lo que hace es desteñir el fondo del gel poniéndose de manifiesto las bandas proteicas.

3.6.4.4.4.2. Isoenzimas de Peroxidasa.

El gel se sumergió en una solución preparada con Tampón fosfato 0,05 M pH 6,5, peróxido de hidrógeno al 1,5 % y orto-dianisidina al 1,0 % en una proporción; 50 : 3,7 : 7,4, respectivamente.

A los 15 minutos aproximadamente, se pusieron de manifiesto las bandas que correspondían a los isoenzimas de Peroxidasa.

3.6.4.4.3. Isoenzimas de Polifenoloxidasa.

La solución en la que se sumergieron los geles para observar las bandas que corresponden a los isoenzimas de polifenoloxidasa, consistió en ácido gálico 0,003 M disuelto en Tampón Fosfato sódico 0,05 M pH 6,5.

A los 15 minutos aproximadamente, se manifestaron las diferentes bandas, correspondientes a los isoenzimas de Polifenoloxidasa. A continuación, se introdujo el gel en una solución de etanol para una mejor manifestación y conservación de las bandas en el tiempo.

3.6.4.4.5. Secado de geles.

Una vez que se destiñó en lo posible el fondo de los geles, se pusieron sobre papel de celofán y se secaron en un secador de geles, Gel Dryer modelo 543 de BIO-RAD.

3.7. ANALISIS SENSORIAL.

Se seleccionaron 10 panelistas que fueron previamente entrenados para evaluar el producto antes y después de realizar el proceso de congelación, así como durante la conservación en estado congelado.

3.7.1. PREPARACION DE LAS MUESTRAS. TIPOS.

Para que los catadores evaluaran las muestras sin tener conocimiento de si estaban o no congeladas, las rodajas de papaya que estaban congeladas, se descongelaron en una cámara a 4°C durante 2 horas.

Se realizaron dos tipos de catas:

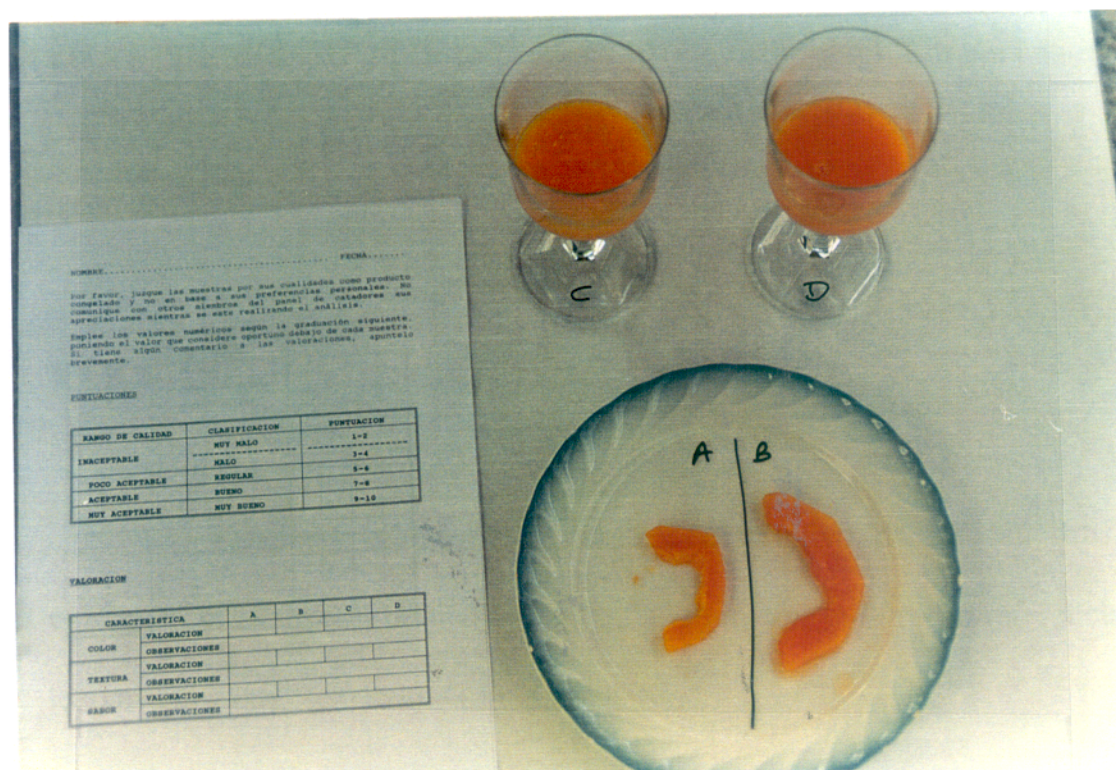
a) En rodajas de papaya. Las rodajas una vez descongeladas se colocaron de forma que el catador no conocía si procedían de frutos hermafroditas o de hembras.

b) Postres. Las rodajas de papaya descongeladas se homogeneizaron con zumos de naranja y limón y con azúcar. Para que no variara la formulación del postre, estos siempre se realizaron de la misma manera:

* Postre hermafrodita: 400 g de papaya hermafrodita + 150 ml de naranja + 50 ml de limón + 35 g de azúcar.

* Postre hembra: 320 g de papaya hembra + 125 ml de naranja + 40 ml de limón + 25 g de azúcar.

Además el catador no conocía si el postre se había elaborado a partir de rodajas hermafroditas o hembras, Fotografía 10.



Fotografía 10: Análisis sensorial.

3.7.2. PRUEBAS SENSORIALES.

Se ubicó a los panelistas en una sala de cata, de acuerdo con las especificaciones recogidas en la propuesta UNE (1976) nº 33119.

3.7.2.1. ACEPTABILIDAD-PREFERENCIA.

El panel de catadores valoró la aceptabilidad de las muestras de acuerdo a una escala continua de 1 (Inaceptable) a 10 (muy aceptable). Los parámetros a evaluar fueron la textura, el color y el sabor.

3.7.2.2. ANALISIS DESCRIPTIVO.

Los catadores realizaron un análisis descriptivo de las muestras, valorando la intensidad de textura, color, y sabor, tomando como referencia los atributos que figuraban en los formularios.

Los panelistas rellenaron los siguientes formularios.

NOMBRE..... FECHA.....

Por favor, juzgue las muestras por sus cualidades como producto congelado y no en base a sus preferencias personales. No comunique con otros miembros del panel de catadores sus apreciaciones mientras se este realizando el análisis.

Emplee los valores numéricos según la graduación siguiente, poniendo el valor que considere oportuno debajo de cada muestra. Si tiene algún comentario a las valoraciones, apuntelo brevemente.

PUNTUACIONES

RANGO DE CALIDAD	CLASIFICACION	PUNTUACION
INACEPTABLE	MUY MALO	1-2
	MALO	3-4
POCO ACEPTABLE	REGULAR	5-6
ACEPTABLE	BUENO	7-8
MUY ACEPTABLE	MUY BUENO	9-10

VALORACION

CARACTERISTICA		A	B	C	D
COLOR	VALORACION				
	OBSERVACIONES				
TEXTURA	VALORACION				
	OBSERVACIONES				
SABOR	VALORACION				
	OBSERVACIONES				

NOMBRE.....FECHA.....

Determine la intensidad de los atributos de cada muestra.

		A	B	C	D
C O L O R	5.- NARANJA/PARDO				
	4.- NARANJA				
	3.- NARANJA BRILLANTE				
	2.- NARANJA PALIDO				
	1.- AMARILLO				
		A	B	C	D
S A B O R	5.- MUY DULCE				
	4.- MENOS DULCE				
	3.- DULCE				
	2.- POCO DULCE				
	1.- INSIPIDO				
		A	B	C	D
T E X T U R A	5.-EXTREMADAMENTE FIRME				
	4.- MUY FIRME				
	3.- FIRME				
	2.- LIGERAMENTE FIRME				
	1.- BLANDO				

Observaciones: sabores extraños, otras características...

3.8. ANALISIS ESTADISTICO.

El tratamiento estadístico de los datos obtenidos a lo largo del presente trabajo de investigación, se realizó con los paquetes estadísticos, Statgraphics e Instat.

3.8.1. ANALISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA.

Una vez extraídos los estadísticos de cada variable, se comprobó el comportamiento normal de la distribución mediante los coeficientes de asimetría y Kurtosis. Las variables presentaron un comportamiento normal por lo que no fue necesario someterlas a transformaciones.

Este análisis descriptivo de la muestra se llevó a cabo mediante la utilización del programa Statgraphics.

3.8.2. ANALISIS DE VARIANZA.

Para determinar la existencia de diferencias significativas en los

distintos parámetros (físicos, fisico-químicos, químicos y bioquímicos), entre los sexos de papaya y los tiempos de maduración o conservación en estado congelado se planteó un modelo de análisis de varianza univariante (ANOVA), perteneciente al programa estadístico Instat. Para cada posible par, el contraste se resolvió mediante la utilización del test Bonferoni. El nivel de confianza se fijó en el 95 %.

3.8.3. T-test.

Para las valoraciones de aceptabilidad de las distintas muestras se planteó la utilización de un test no paramétrico, T-test para pares de muestras, perteneciente al programa estadístico Instat. El nivel de confianza se fijó en el 95 %.

3.8.4. ANALISIS DE FRECUENCIA.

Con los resultados obtenidos del análisis descriptivo de las muestras, se realizó un análisis comparativo de frecuencias entre las valoraciones obtenidas antes y después de realizar el proceso de congelación, así como

durante la conservación en estado congelado. Se planteó la hipótesis de la independencia para cada variable (atributo), que se resolvió mediante el contraste de ajuste Chi-cuadrado de Pearson.

Ante la dispersión observada en los datos fue necesario realizar un agrupamiento previo de los mismos, quedando de la siguiente manera:

* Textura:

- 3. Firme
(5. Extremadamente firme y 4. Muy firme)
- 2. Ligeramente firme
(3. Firme y 2. Ligeramente firme)
- 1. Blando
(1. Blando)

* Color:

- 3. Naranja pardo
(5. Naranja pardo)
- 2. Naranja brillante
(4. Naranja y 3. Naranja brillante)
- 1. Naranja pálido
(2. Naranja pálido y 1. amarillo)

- * Sabor:
- 3. Muy dulce
 - (5. Muy dulce y 4. Menos dulce)
 - 2. Dulce
 - (3. Dulce)
 - 1. Poco dulce
 - (2. Poco dulce y 1. Insípido)

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. PARAMETROS BIOQUIMICOS.

4.1.1. PUESTA A PUNTO DE LAS DETERMINACIONES ENZIMATICAS.

A fin de establecer las condiciones óptimas para la determinación de las actividades enzimáticas peroxidasa (POD) y polifenoloxidasas (PPO) en frutos de papaya hermafrodita y hembra, se realizaron diversos ensayos encaminados a determinar los tampones de extracción más idóneos, tanto en concentración de sales como en pH. Este estudio se realizó con liofilizado de papaya hermafrodita y los resultados obtenidos fueron comprobados, posteriormente en los frutos hembras.

4.1.1.1. ELECCION DEL TAMPON DE EXTRACCION.

En función del material vegetal considerado, existe en la bibliografía distintos métodos de extracción de los enzimas POD y PPO. En general, la fracción soluble de la actividad POD se extrae con agua o tampones de baja fuerza iónica, mientras que la fracción ligada iónicamente requiere la utilización de un tampón de fuerza iónica elevada. La actividad unida covalentemente a la pared celular sólo puede ser liberada mediante una digestión enzimática de la pared celular (Nagle y Haard, 1975).

La solubilización de las formas de PPO ligadas a la pared celular, se suele llevar a cabo mediante el empleo de detergentes como Tween-80 o el Triton X-100 (Takeo, 1965; Stelzig y col., 1972; Galeazzi y col., 1981). La oxidación de los fenoles durante el proceso de extracción origina pigmentos

poliméricos que pueden inactivar este enzima, por ello se recurre a trabajar a temperaturas por debajo de 0°C o a la adición de sustancias capaces de unirse a los fenoles eliminándolos del medio. La polivinilpolipirrolidona (PVPP o PVP insoluble) es uno de los polímeros más utilizados con este fin (Prince, 1992).

Atendiendo a todo lo anteriormente expuesto, se realizaron extracciones con distintos tampones para establecer el tampón más adecuado para la extracción.

- (A) Tampón fosfato sódico 0,05 M (pH 7,0)
- (B) Tampón fosfato sódico 0,05 M (pH 7,0) + NaCl 1 M
- (C) Tampón fosfato sódico 0,05 M (pH 7,0) + Triton X-100 0,5%
- (D) Tampón fosfato sódico 0,05 M (pH 7,0) + NaCl 1 M + Triton X-100 0,5%.
- (E) Tampón fosfato sódico 0,2 M (pH 7,0)
- (F) Tampón fosfato sódico 0,2 M (pH 7,0) + NaCl 1 M
- (G) Tampón fosfato sódico 0,2 M (pH 7,0) + Triton X-100 0,5%
- (H) Tampón fosfato sódico 0,2 M (pH 7,0) + NaCl 1 M + Triton X-100 0,5%

A todos estos tampones se les añadió PVP insoluble al 1%.

- (I) Tampón fosfato sódico 0,05 M (pH 7,0)
- (J) Tampón fosfato sódico 0,05 M (pH 7,0) + NaCl 1 M
- (K) Tampón fosfato sódico 0,05 M (pH 7,0) + Triton X-100 0,5%
- (L) Tampón fosfato sódico 0,05 M (pH 7,0) + NaCl 1 M + Triton X-100 0,5%
- (M) Tampón fosfato sódico 0,2 M (pH 7,0)

- (N) Tampón fosfato sódico 0,2 M (pH 7,0) + NaCl 1 M
 (Ñ) Tampón fosfato sódico 0,2 M (pH 7,0) + Triton X-100 0,5%
 (O) Tampón fosfato sódico 0,2 M (pH 7,0) + NaCl 1 M + Triton X-100 0,5%

A estos tampones se les añadió PVP soluble al 1%.

Los resultados obtenidos se reflejan en la Tabla V.

TAMPON PPO	ACTIVIDAD POD (Δ DO/min/g liof)	ACTIVIDAD (Δ DO/min/g liof)
A	86,77	76,25
B	98,84	82,36
C	124,74	117,56
D	117,08	118,34
E	150,94	120,51
F	152,11	122,82
G	151,74	121,98
H	152,99	123,74
I	65,71	42,98
J	82,32	48,56
K	110,46	109,89
L	117,90	116,36
M	122,18	123,46
N	126,60	124,22
O	137,16	124,48
P	124,63	125,36

Tabla V: Influencia del tampón de extracción en la determinación de la actividad peroxidasa (POD) y polifenoloxidasasa (PPO).

En la Tabla anterior se observa que la utilización de tampón fosfato con PVPP (PVP insoluble), mejora el proceso de extracción obteniéndose un extracto enzimático con mayor actividad POD y PPO que cuando se utiliza PVP soluble. Esto puede deberse principalmente a la retirada de fenoles del medio que podrían interferir en la determinación de la actividad de dichos enzimas.

La adición de Triton X-100 al tampón de extracción, conduce a un ligero incremento de la actividad POD y PPO. Sin embargo, este aumento no es lo suficientemente importante y no compensa su utilización por las dificultades que conlleva la presencia de un detergente, a la hora de trabajar con extractos enzimáticos.

La adición de una sal, NaCl, conduce a un aumento en la actividad enzimática POD y PPO, cuando se trabaja con tampones de baja fuerza iónica (0,05 M). Al utilizar tampones de fuerza iónica alta (0,2 M), la adición de sales no produce un aumento significativo de ambas actividades. Además la utilización de tampones de baja fuerza iónica, conduce a la extracción de las proteínas solubles en el citoplasma, mientras que para la extracción de las proteínas solubles y ligadas iónicamente a la pared celular, es decir las proteínas totales, se recurre a la utilización de tampones de fuerza iónica alta.

En este trabajo de investigación se consideró la utilización de un tampón de fuerza iónica alta (0,2 M), debido a que estos son capaces de producir "per se" una liberación de los enzimas ligados a la pared celular sin necesitar la adición de sales ni de Triton X-100.

4.1.1.2. ELECCION DEL pH OPTIMO DE ACTUACION DE LOS ENZIMAS.

El pH óptimo de la actuación de la peroxidasa varía en un amplio margen (4,0-7,0), mientras que en el caso de la polifenoloxidasas, oscila en función de la fuente del enzima y del sustrato considerado (Mihalyi, 1978). No ha sido posible encontrar estudios centrados en la determinación del pH óptimo de la actividad POD ni PPO en frutos de papaya.

Para determinar el pH óptimo de actuación de ambas actividades enzimáticas, se realizaron las actividades necesarias en tampones fosfato sódico 0,05 M, cuyo pH oscilaba entre 5 y 7,5. La determinación de la actividad POD y PPO se realizó según lo descrito en el apartado de Materiales y Métodos (3.4.6.2.). Los resultados se reflejan en las Figuras 3 y 4.

DETERMINACION DEL pH OPTIMO DE ACTUACION DE LA PEROXIDASA

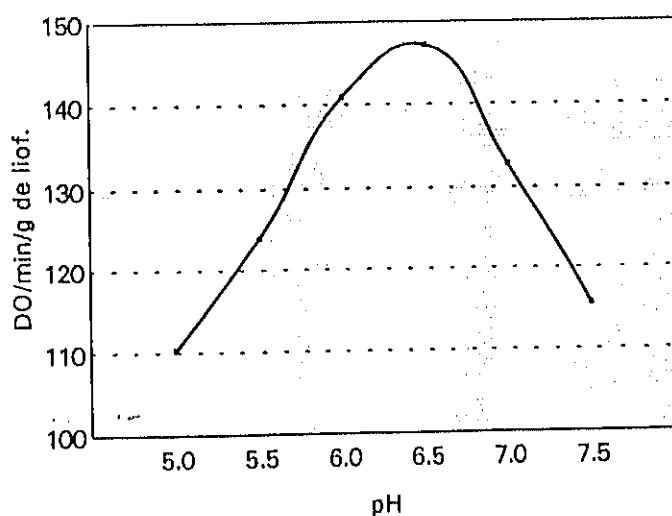


Figura 3: Determinación del pH óptimo de actuación de la peroxidasa (POD).

DETERMINACION DEL pH OPTIMO DE ACTUACION DE LA POLIFENOLOXIDASA

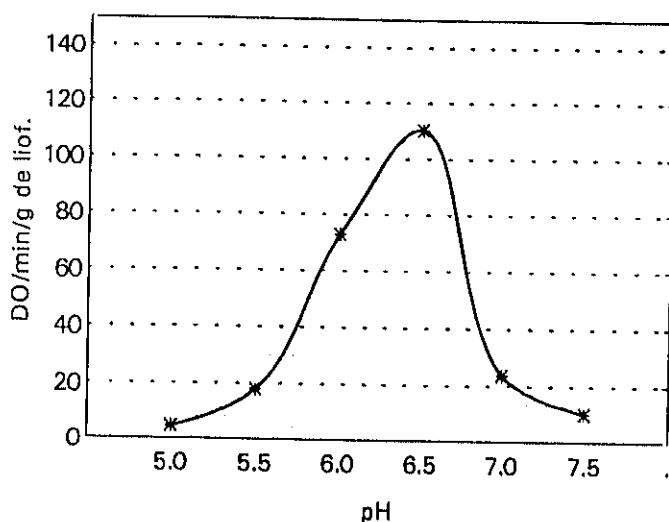


Figura 4: Determinación del pH óptimo de actuación de la polifenoloxidasasa (PPO).

4.1.1.3. ESPECIFICIDAD DE PPO HACIA DISTINTOS SUSTRATOS.

Se utilizaron como sustratos no naturales el Catecol y el 4-metil Catecol y como sustratos naturales la L-Dopa y la Catequina, disueltos en tampón fosfato pH 6,5.

La obtención del extracto enzimático se realizó como se explicó en el apartado de Materiales y Métodos. La lectura de la actividad PPO se realizó a 420 nm cuando se utilizó Catecol, 4-metil Catecol y Catequina, y a 480 nm cuando se utilizó L-Dopa.

Las concentraciones de las soluciones que actuaron como sustrato de la PPO, así como los resultados obtenidos se muestran en la Tabla VI.

SOLUCION	ACTIVIDAD PPO (Δ DO/min/g liof)
Catecol (0,5 M)	119,81
4-metil Catecol (0,06 M)	56,97
L-Dopa (0,015 M)	7,66
Catequina (0,003 M)	----

Tabla VI: Influencia del sustrato en la determinación de la actividad polifenoloxidasas (PPO).

Cuando se utiliza Catequina, se observa que no se puede medir la actividad de polifenoloxidasas. Sin embargo el empleo de Catecol y 4-metil Catecol, sustratos no naturales, demuestra la existencia de este enzima. Por otro lado, la utilización de L-Dopa a muy baja concentración (0,015 M), también manifiesta la actividad PPO aunque existe un período de latencia de unos tres minutos. Esta latencia es en cierto modo lógica pues mientras que el Catecol y el 4-metil Catecol son difenoles no naturales, la L-Dopa es un difenol natural (Vamos-Vigyazo, 1981).

4.1.1.4. ELECCION DE LA CONCENTRACION DE SUSTRATO PARA LA DETERMINACION DE PPO.

Se partió de dos sustratos, Catecol y 4-metil Catecol, que aunque no

son sustratos naturales de la PPO, fueron los más adecuados en la determinación de la actividad polifenoloxidasas. Se realizaron diluciones de las soluciones madres (Catecol 0,1 M y 4-metil Catecol 0,01 M, disueltos en tampón fosfato 0,05 M pH 6,5).

En las Figuras 5 y 6 se observa como a medida que aumenta la concentración de ambos sustratos, la actividad de polifenoloxidasas aumenta hasta que se satura debido a un exceso de sustrato.

ESTUDIO DE SUSTRATO

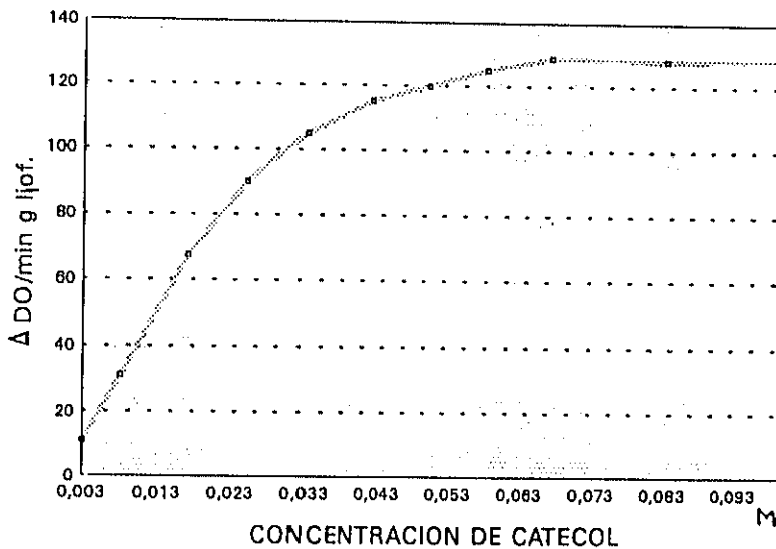


Figura 5: Actividad PPO cuando se utilizan distintas concentraciones de catecol.

ESTUDIO DE SUSTRATO

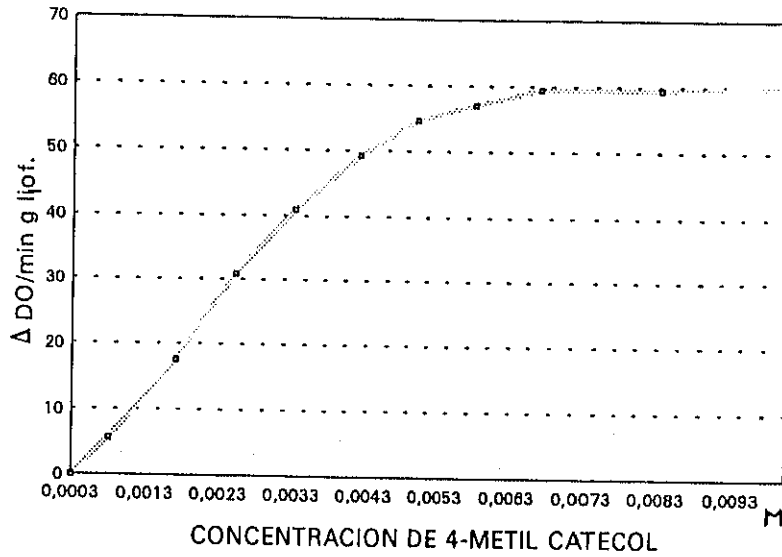


Figura 6: Actividad PPO cuando se utilizan distintas concentraciones de 4-metil catecol.

La constante de Michaelis de un enzima constituye una característica útil e importante, que es fundamental no sólo para la descripción matemática de la cinética enzimática, sino también de para la determinación cuantitativa de la actividad enzimática en los tejidos y la purificación del enzima. Además, la concentración de sustrato que proporciona la mitad de la velocidad máxima, facilita una indicación útil para el análisis de algunos mecanismos de regulación enzimática. Las Figuras 7 y 8 muestran los valores de K_m y V_{max} , determinados para catecol y 4-metil catecol.

ESTUDIO DE SUSTRATO Km y Vmax

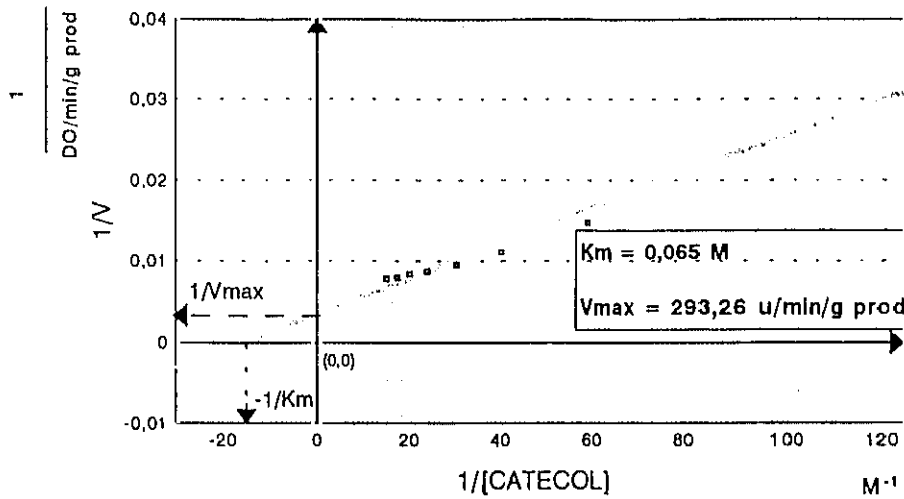


Figura 7: Determinación de la K_m y V_{max} cuando se utiliza catecol como sustrato.

ESTUDIO DE SUSTRATO Km y Vmax

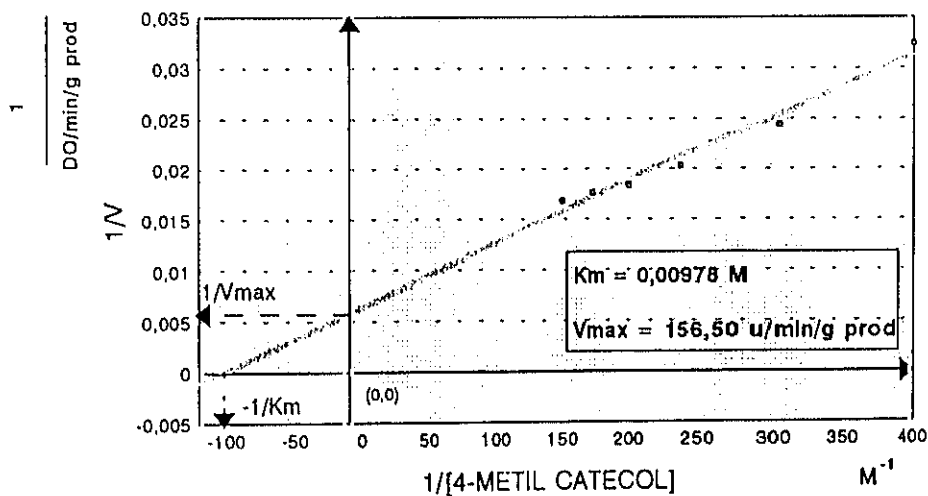


Figura 8: Determinación de la K_m y V_{max} cuando se utiliza 4-metil catecol como sustrato.

Como K_m es directamente proporcional a V_{max} , a mayor valor de K_m mayor V_{max} , y como consecuencia se puede concluir que la afinidad del enzima por el sustrato es mayor, puesto que la velocidad de formación del compuesto de la reacción también es mayor, (Lehninger, 1986). De este hecho se puede concluir que la afinidad de la polifenoloxidasas es mayor hacia el catecol ($K_m=6,5 \times 10^{-2} \text{ M}$) que hacia el 4-metil catecol ($K_m=9,78 \times 10^{-3} \text{ M}$).

Por todo lo anteriormente expuesto en el presente trabajo de investigación, se utilizó Catecol 0,05 M como sustrato idóneo en la determinación de la actividad polifenoloxidasas por resultar la actividad de polifenoloxidasas mayor que cuando se utilizan otros sustratos y otras concentraciones.

4.1.2. PARAMETROS BIOQUIMICOS: EFECTO DE LA MADURACION, PROCESO DE CONGELACION Y CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO.

4.1.2.1. PROTEINAS EXTRAIDAS.

La evolución en el contenido de proteínas extraídas durante la maduración, así como los cambios ocasionados por el proceso de congelación y durante su conservación en estado congelado (-24°C), se muestran en las Figuras 9 y 10, respectivamente.

* Efecto de la maduración.

En la evolución que sufren las proteínas extraídas durante la maduración en ambos frutos, se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,005$) en tres de los cuatro grados de madurez estudiados (1, 10 y 15 días de conservación a 14°C), Figura 9. El contenido mayor en proteínas extraídas se produce a los 10 días de maduración 3^{er} grado de madurez de ambos frutos (7,97 mg proteínas extraídas/g liofilizado en frutos hermafroditas y 8,91 mg de proteínas extraídas/g liofilizado en frutos hembras). Si se atiende a la evolución del contenido en proteínas extraídas en los frutos hermafroditas, se puede observar que se producen diferencias significativas hasta el décimo día de conservación, correspondiente al 3^{er} grado de maduración, cuando el fruto presenta 7,97 mg de prot ext/g liofilizado). Los frutos de papaya hermafrodita en estado preclimático, presentan valores de 5,73 mg prot ext/g liofilizado. Estos resultados son similares a los descritos por Salunkhe (1984). Una vez que el producto alcanzó el 4^o grado de maduración (15 días), se observó una caída en las proteínas extraídas que no fue significativo (6,36 mg prot ext/g liofilizado), Tabla 1 (anexo).

En el fruto preclimático hembra, el contenido de proteínas extraídas fue de 7,60 mg/g liofilizado, produciéndose una disminución de las mismas del 12,5% , a los 5 días de conservación en la cámara frigorífica, según se muestra en la Figura 9. A los 10 días de conservación, se produjo un aumento estadísticamente significativo (8,91 mg prot ext/g liofilizado). En el 4^o grado de maduración, se produjo una ligera disminución del contenido de proteínas extraídas que no fue significativo (8,27 mg prot ext/g liofilizado).

Si se compara el contenido en proteínas extraídas, a lo largo de la

maduración, de los frutos hermafroditas y hembras se observa que estos valores son siempre superiores en los frutos hembras, existiendo por tanto diferencias significativas salvo a los 5 días de maduración.

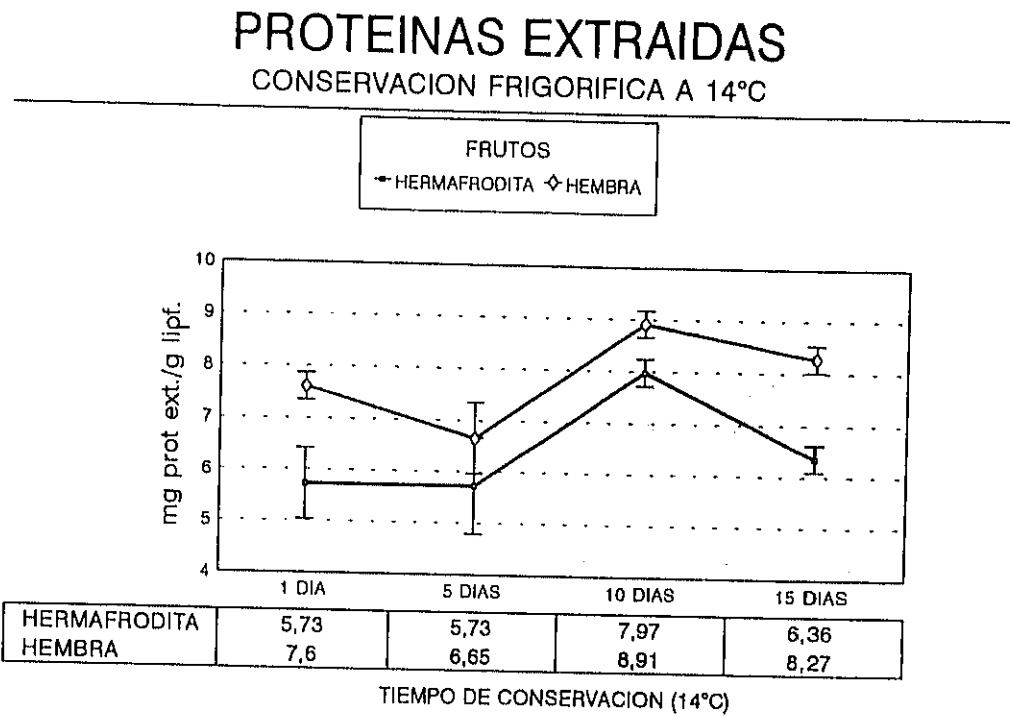


Figura 9: Proteínas totales extraídas durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

Este estudio se realizó, con frutos que habían alcanzado el 3^{er} grado de maduración (10 días de almacenamiento a 14°C). El contenido en proteínas extraídas de las rodajas antes de ser sometidas al proceso de congelación, fue de 13,75 mg/g liofilizado en las hermafroditas y 12,85 mg/g liofilizado en las hembras, según se muestra en la Figura 10.

Cuando las rodajas de papaya procedentes de frutos hermafrodita y hembra son sometidas al proceso de congelación, se produce una disminución

no significativa (7,14%) y (1,6%) respectivamente, de forma que la cantidad de proteínas extraídas en los dos frutos, no es estadísticamente significativa.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

Durante los doce meses de conservación en estado congelado, se producen variaciones, estadísticamente significativas, en la cantidad de proteínas extraídas en los distintos tiempos de almacenamiento, Figura 10.

En el fruto hermafrodita, la cantidad de proteína extraída es significativamente menor a los 3, 9 y 12 meses de conservación, que en el control (13,75 mg prot ext/g liofilizado), como puede observarse en la Tabla 2 (anexo).

En el fruto hembra, las proteínas extraídas no sufren variaciones significativas salvo si comparamos los 3 y 9 meses, con los 12 meses de almacenamiento. A los 3 y 9 meses se produce un aumento en el contenido de proteínas extraídas (15,30 mg/g liofilizado y 14,32 mg/g liofilizado), para disminuir a los 12 meses de conservación (11,36 mg/g liofilizado).

Si se comparan los contenidos en proteínas extraídas de las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, se observa que si bien a los 3 meses la diferencia en este parámetro no es significativa, si lo es a los 6 y 9 meses, alcanzando valores de 12,43 y 13,44 mg/g liofilizado (6 meses) y 11,15 y 14,32 mg/g liofilizado (9 meses), respectivamente. Al final de la conservación (12 meses), resulta ser muy similar el contenido de proteínas extraídas en la dos muestras congeladas, según la Tabla 2 (anexo).

PROTEINAS EXTRAIDAS
CONGELACION Y CONSERVACION A -24°C

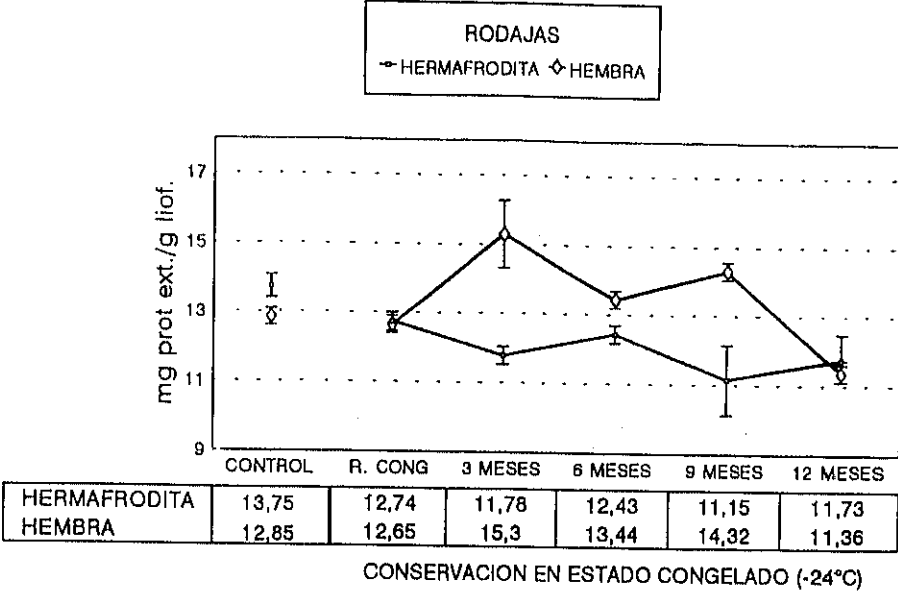


Figura 10: Proteínas totales extraídas durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.1.2.1.1. Discusión de los resultados.

Los frutos de papayas hermafroditas y hembras experimentan durante su maduración una evolución diferente en el contenido de proteínas totales determinadas según el apartado de materiales y métodos. En el fruto hermafrodita se produce un aumento entre los 5 y 10 días de maduración y disminuye a los 15 días debido posiblemente a la senescencia del fruto. En la senescencia, las proteasas degradan las proteínas y enzimas de forma que podría ser esta la razón de un menor contenido en proteínas totales a los 15 días de conservación frigorífica a 14°C, Dilley (1970). En el fruto hembra, se produce a los 5 días de maduración una disminución no significativa en el contenido de proteínas totales que podría ser debido al balance entre procesos

metabólicos de síntesis y degradación simultáneos. A los 10 días se vuelve a observar un incremento en este parámetro. Posteriormente, a los 15 días, senescencia del fruto, se observa una disminución del contenido de las proteínas totales como ocurría en el fruto hermafrodita.

La congelación produce, "per se", una ligera modificación en el contenido de proteína total, que fue más significativo en la papaya hembra que en la hermafrodita. Los trozos de papaya, hembra y hermafrodita, congelados-descongelados sufren una disminución del (7,14%) y (1,60%) respectivamente, de forma que la concentración después del período de conservación en estado congelado, fue la misma para los dos tipos de frutos. Este resultado está de acuerdo con las investigaciones llevadas a cabo por Marín y col., (1992) sobre el efecto del proceso de congelación en las proteínas de las frutas. Si se tiene en cuenta que al descongelar el exudado que se produce es pequeño, se podría concluir que el efecto de la congelación sobre las proteínas se debe a la desnaturalización de la fracción de proteínas más lábiles a consecuencia de las bajas temperaturas.

El comportamiento, que a partir del proceso de congelación sufren las proteínas en los trozos de papaya hembra y hermafrodita, es totalmente inverso, hasta que al final de la conservación, 12 meses, se iguala. Las proteínas de la papaya hembra aumentan durante la conservación, alcanzando su máximo a los 3 meses de almacenamiento, mientras que las de la papaya hermafrodita no sufren diferencias significativas. El hecho de que el contenido en proteínas totales aumente ligeramente durante la conservación a -24°C , también podría atribuirse a la facilidad de extracción por daños en la estructura celular. Asimismo, podrían influir otros factores como la deshidratación mayor que sufre esta muestra durante la conservación.

4.1.2.2. ACTIVIDAD PEROXIDASA TOTAL Y ESPECIFICA.

Los resultados referentes a la actividad POD de los frutos de papaya hermafrodita y hembra, determinados durante la maduración, proceso de congelación y conservación al estado congelado a -24°C , se dividieron en actividad peroxidasa total y actividad peroxidasa específica. Como se ha comentado en el apartado de elección del tampón de extracción, la actividad peroxidasa total se obtiene al utilizar un tampón de extracción de alta fuerza iónica, pues se consigue extraer aquella fracción que se encuentra ligada a las paredes celulares. La actividad peroxidasa específica se obtiene al referir la actividad peroxidasa total a la cantidad de proteínas extraídas.

a) Actividad peroxidasa total.

Las Figuras 11 y 12 muestran la actividad peroxidasa total.

*** Efecto de la maduración.**

La actividad peroxidasa total sufre a lo largo de la maduración de los dos frutos, hermafroditas y hembras, una evolución diferente siendo siempre la actividad POD total mayor en los frutos hembras. En el fruto hermafrodita se producen diferencias estadísticamente significativas entre la actividad total del fruto preclimatérico ($174,16 \Delta\text{DO}/\text{min}/\text{g}$ liofilizado) y la observada a los 5 y 15 días de conservación en cámara frigorífica ($155,54$ y $160,16 \Delta\text{DO}/\text{min}/\text{g}$ liofilizado, respectivamente), Tabla 1 (anexo). Mientras que en el fruto hembra no se observan diferencias significativas entre los dos primeros estados de madurez (1 y 15 días de conservación a 14°C).

Por lo tanto, la actividad POD total sufre una disminución continua, en ambos frutos (5,91 % hermafrodita y 14,62 % hembra), hasta la madurez de los mismos (10 días), cuando muestra valores de 163 y 171,99 $\Delta DO/min/g$ liofilizado respectivamente, manteniéndose sin cambios hasta el final de la conservación, Figura 11.

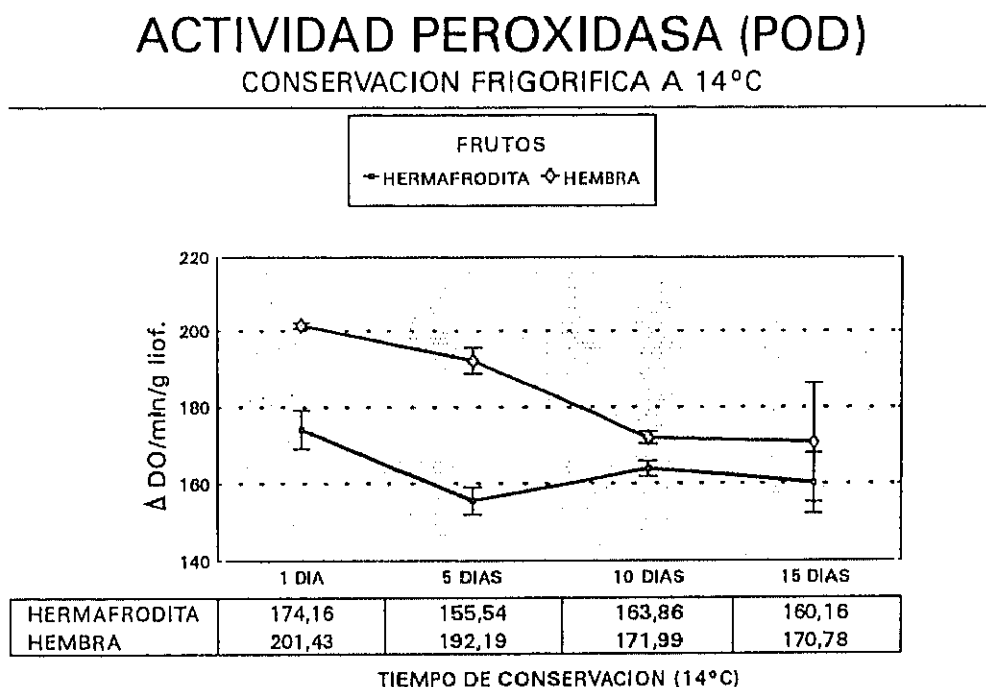


Figura 11: Actividad peroxidasa total durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

Los frutos de papaya hermafrodita y hembra empleados para realizar el estudio del efecto de la actividad peroxidasa total, no presentaron valores significativamente diferentes como puede observarse en la Figura 12.

A consecuencia del proceso de congelación, se produce un aumento estadísticamente significativo en la actividad POD total (13,73 % y 13,45 %), tanto en los frutos hermafroditas como en las hembras.

Sin embargo, si comparamos la actividad POD en los frutos recién congelados de ambos sexos, podemos afirmar que no existen diferencias significativas.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

A lo largo de la conservación en estado congelado de las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, las actividades POD total sufren una serie de cambios estadísticamente significativos, que se describen a continuación.

La actividad POD en las rodajas de fruto hermafrodita sufre a los 3 meses una disminución estadísticamente significativa (6,83 %) respecto a la existente en el fruto recién congelado (164,3 Δ DO/min/g liofilizado); de forma que su actividad resulta ser muy similar a la del fruto fresco (control). A partir del tercer mes, no se producen diferencias significativas en los valores de actividad POD total, Figura 12.

En las rodajas de papaya hembra, la actividad POD total sufre un aumento estadísticamente significativo a partir de los 3 meses, alcanzando un valor de 182,32 Δ DO/min/g liofilizado. Sin embargo a partir de los 9 meses se produce una disminución de la actividad POD total (25,5 %), de forma que

no existe diferencia significativa en la actividad de este enzima entre las rodajas de papaya conservadas durante 12 meses a -24°C y el valor de este parámetro en el fruto fresco, antes del procesado.

La diferencia en la actividad POD total en las muestras procesadas de ambos frutos, a lo largo de la conservación en estado congelado, es significativamente muy diferente salvo a los 6 meses de almacenamiento, cuando ambos adquieren valores cercanos a $166\ \Delta\text{DO}/\text{min}/\text{g}$ liofilizado, Tabla 2 (anexo).

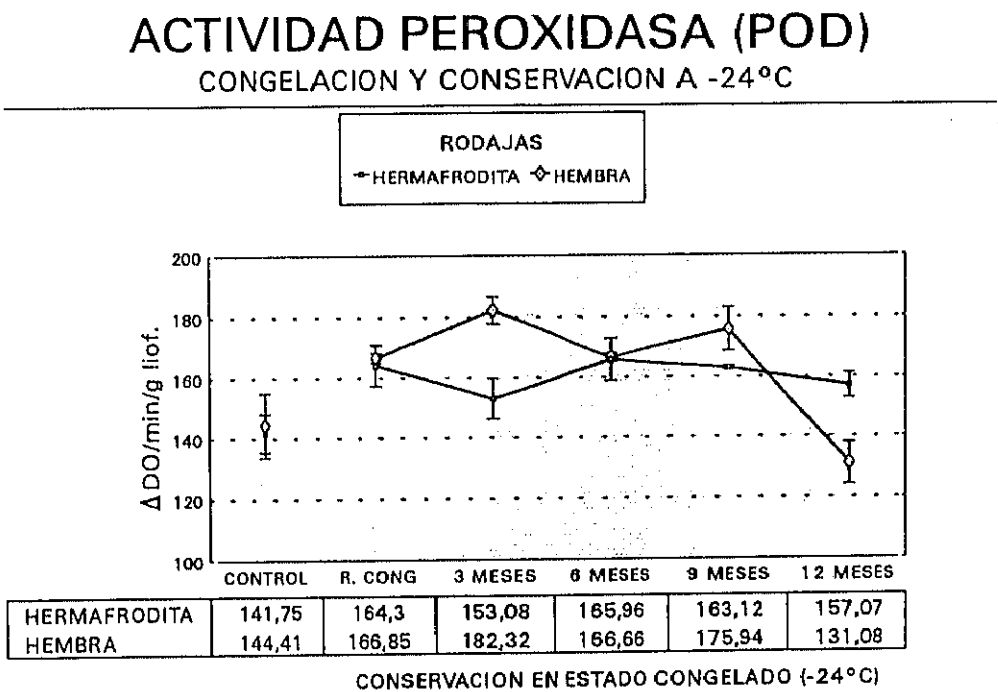


Figura 12: Actividad peroxidasa total durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

b) Actividad POD específica.

Al analizar la evolución de la actividad específica, es decir la variación en la absorbancia durante un minuto por mg de proteína extraída se pueden observar los resultados que a continuación se describen.

* Efecto de la maduración.

En la Figura 13 se observa que existen diferencias estadísticamente significativas entre los frutos de papaya hermafroditas y hembras, respecto a su actividad peroxidasa específica; adquiriendo valores ligeramente superiores en los frutos hermafroditas.

Al inicio del estudio de maduración, frutos preclimatéricos, la actividad POD específica fue de 30,41 Δ DO/min/mg prot ext para el fruto hermafrodita y 26,65 Δ DO/min/mg prot ext para el hembra, Tabla 1 (anexo).

En el fruto hermafrodita se produce una disminución en la actividad POD específica estadísticamente significativa, durante el proceso de maduración (32,39%); llegando a observarse valores de esta actividad de 25,18 Δ DO/min/mg prot ext, en los frutos senescentes o sobremaduros.

En cuanto al fruto hembra, esta disminución en POD específica es estadísticamente significativa atendiendo a los valores inicial (1 día) y final (15 días) de conservación. La disminución de actividad POD específica, durante todo el período de conservación a 14°C, que se produce en los frutos hembras es del 22,48%.

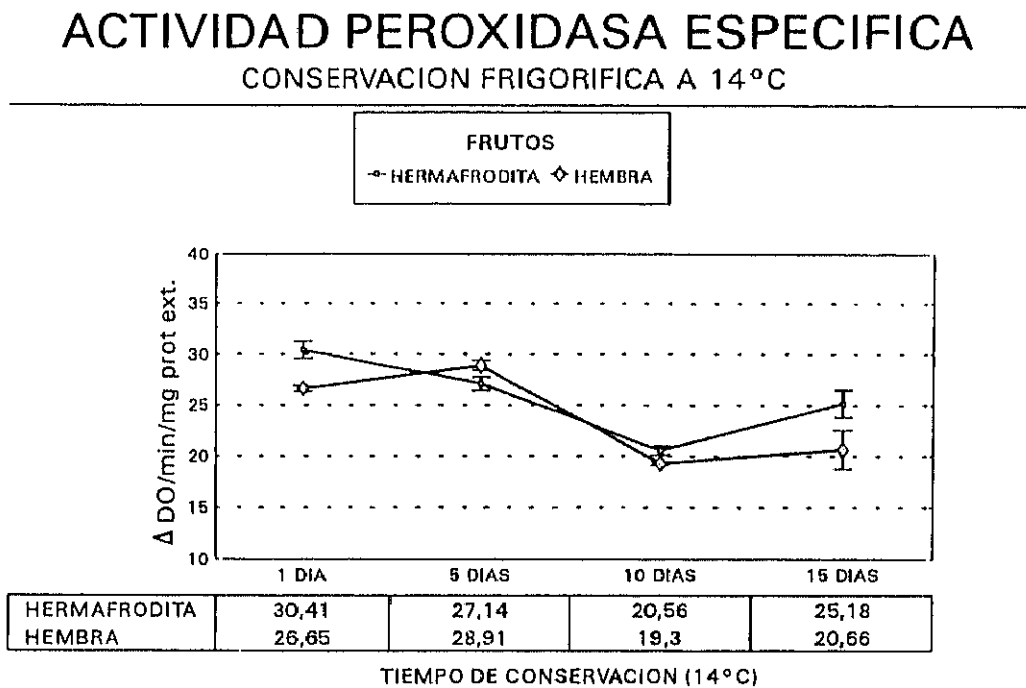


Figura 13: Actividad peroxidasa específica durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

La actividad peroxidasa específica no es estadísticamente significativa entre frutos hermafroditas y hembras siendo 10,31 $\Delta\text{DO}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína extraída y 11,24 $\Delta\text{DO}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína extraída, respectivamente.

Como consecuencia del proceso de congelación de los tejidos "per se", se produce un aumento estadísticamente significativo en la POD específica tanto en las rodajas de papaya hermafrodita (20,14 %) como hembra (14,78 %), Figura 14.

Las muestras hermafroditas y hembras recién congeladas no muestran diferencias significativas respecto al valor de actividad POD específica, (12,91 y 13,19 Δ DO/min/mg prot ext, respectivamente), Tabla 2 (anexo).

* Efecto durante la conservación en estado congelado.

La evolución de la actividad POD específica no sufre variaciones significativas en ninguno de los tipos de rodajas de papaya, durante su conservación en estado congelado.

La actividad específica de la POD es estadísticamente significativa entre ambos frutos a partir del 3^{er} mes de almacenamiento, siendo significativamente mayor en los frutos hermafroditas, hasta el final de la conservación (12 meses).

ACTIVIDAD PEROXIDASA ESPECIFICA
CONGELACION Y CONSERVACION A -24°C

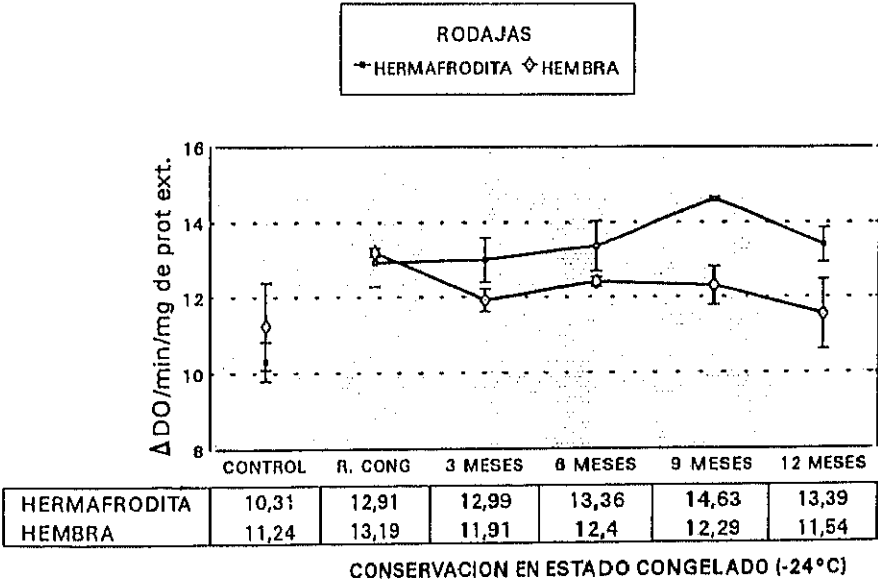


Figura 14: Actividad peroxidasa específica durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C):

4.1.2.2.1. Discusión de los resultados.

La actividad peroxidasa total (POD), determinada en los frutos de papaya hermafrodita y hembra disminuye a lo largo de la conservación a 14°C. Por el contrario, en otros frutos tropicales como el mango se produce un aumento de la actividad POD a lo largo de la maduración (Marín y Cano, 1992). Puesto que el contenido en proteínas totales disminuye al final de la conservación podría decirse que en la senescencia se produce una disminución en la síntesis de este enzima. Este dato además estaría en relación con lo obtenido en la determinación de la actividad peroxidasa específica, ya que está expresada como el $\Delta\text{DO}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

La peroxidasa, es un enzima muy estable a temperaturas bajas, pero la congelación y el posterior almacenamiento de frutas y hortalizas congeladas, normalmente conduce a una desactivación de la misma, que parece ser debida a la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares que modifican la conformación del enzima (Maier y col., 1967). Sin embargo, la actividad de la peroxidasa no se destruye, sino que disminuye o se inactiva reversiblemente, de ahí que se haya observado después del almacenamiento, corto o largo, una regeneración de esta actividad, lo que conduce a un deterioro de la calidad del producto (Burnette, 1977; Marín y Cano, 1993).

El proceso de congelación provoca un incremento en la actividad peroxidasa. Este efecto contrario al anteriormente descrito para proteínas nos indica que se ha producido en este proceso un incremento en la facilidad de extracción de las formas de POD ligadas a la pared celular como consecuencia de la congelación y posterior descongelación del tejido. Además la actividad POD específica también aumentó de forma significativa.

Durante la conservación en estado congelado, se observan variaciones en la actividad POD total, tanto en las rodajas de papaya hermafrodita como en las hembras. A los tres meses la actividad de POD en el fruto hembra es significativamente mayor que en cualquier otro momento del estudio, igual que ocurría con el contenido en proteínas totales. Este hecho podría relacionarse con el daño mecánico producido por el crecimiento de cristales de hielo en el tejido y por el cambio de la fuerza iónica citoplásmica, que causa un aumento de la solubilidad de las proteínas ligadas a la pared celular del tejido fresco. Al aumentar la extracción de proteínas, también se produce un aumento de la actividad de POD. Este hecho no se observa en el fruto hermafrodita, pues a los tres meses de conservación a -24°C el contenido en proteínas es menor y la actividad enzimática POD también lo es. La actividad peroxidasa específica determinada en las rodajas de papayas hermafroditas y hembras congeladas no sufre modificaciones a lo largo de su conservación a -24°C .

4.1.2.3. ACTIVIDAD POLIFENOLOXIDASA TOTAL Y ESPECIFICA.

En este apartado se van a comentar los resultados obtenidos en la determinación de PPO total y PPO específica.

a) Actividad PPO total.

La evolución de la actividad Polifenoloxidasa total de las rodajas de las

muestras de papaya hermafrodita y hembra, aparecen reflejadas en las Figuras 15 y 16.

* Efecto de la maduración.

La evolución de la actividad PPO total durante la maduración de los frutos de papaya hermafrodita y hembra, queda reflejada en la Figura 15. Los valores de actividad PPO total son relativamente mayores en los frutos hembras que en los hermafroditas. Las diferencias en la actividad polifenoloxidasa observada entre ambos frutos son estadísticamente más significativas en los frutos no maduros en un estado preclimático; convirtiéndose en no significativa en los frutos que han alcanzado la senescencia (15 días de conservación).

En el fruto hermafrodita no existen diferencias entre los valores de PPO total inicial 129,74 Δ DO/min/g liofilizado y los observados a los 5 y 15 días de su conservación, sin embargo, a los 10 días de conservación estos frutos experimentan un aumento significativo de la actividad PPO total, que coincide con la madurez del fruto (144,73 Δ DO/min/g liofilizado), Tabla 1 (anexo).

Por el contrario, en el fruto hembra existen diferencias significativas en la actividad si comparamos entre sí todos los grados de madurez; observándose también un máximo de actividad PPO total que coincide con la madurez del fruto (158,5 Δ DO/min/g liofilizado), Figura 15.

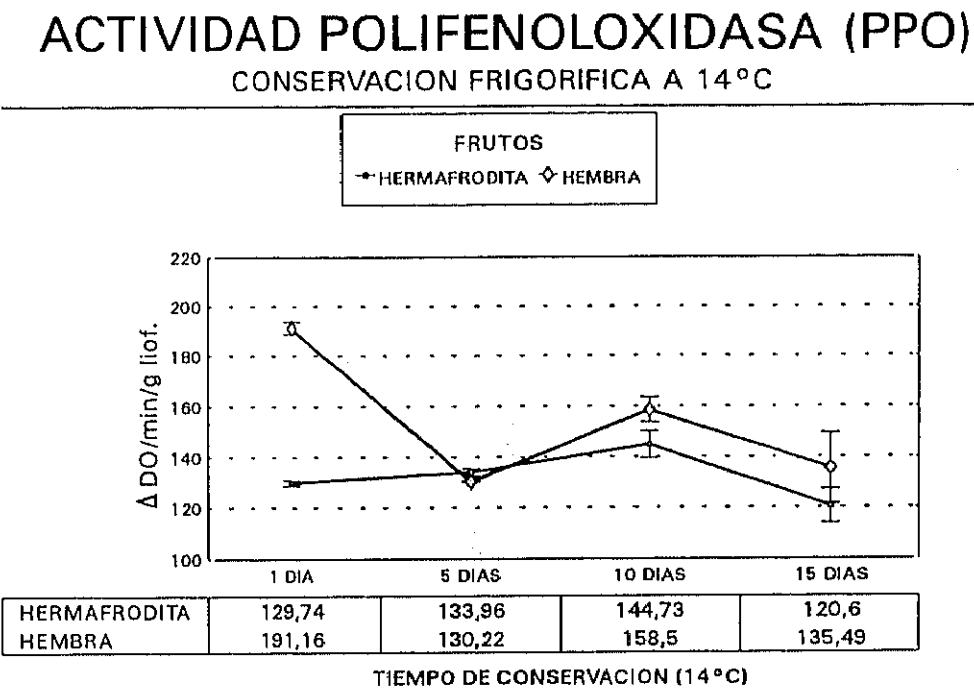


Figura 15: Actividad polifenoloxidasa total durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

La actividad PPO total determinada en ambos frutos frescos, antes del proceso, es estadísticamente muy significativa; mostrando valores de 126,51 y 109,62 $\Delta\text{DO}/\text{min}/\text{g}$ liofilizado, para frutos hermafroditas y hembras, respectivamente, Tabla 2 (anexo).

Durante el proceso de congelación, la actividad PPO total en las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, sufre un aumento estadísticamente significativo, alcanzando valores de 154,17 y 121,48 $\Delta\text{DO}/\text{min}/\text{g}$ liofilizado,

respectivamente. Este cambio supone incrementos del (17,94%) y (9,76%) para ambos lotes.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

Durante el proceso de conservación en estado congelado, la actividad PPO total va a sufrir variaciones estadísticamente significativas, según se muestra en la Figura 16.

En las rodajas de frutos de papaya hermafrodita, se observa una disminución muy significativa en la actividad de PPO total a los 3 meses de conservación, respecto al resto de las determinaciones en los restantes períodos. Sin embargo, la actividad a los 3 meses de almacenamiento (123,31 Δ DO/min/g liofilizado), es semejante a la del fruto control. A partir del 6º mes se produce una ligera regeneración en la actividad del enzima, alcanzando valores de 145 Δ DO/min/g liofilizado, a los 12 meses de conservación a -24°C, Tabla 2 (anexo).

La actividad PPO total en rodajas de frutos hembra también sufre una regeneración estadísticamente significativa a los 3 meses de conservación al estado congelado (163,25 Δ DO/min/g liofilizado). A continuación se produce una disminución en la actividad alcanzando a los 12 meses, valores cercanos a 118,19 Δ DO/min g liofilizado.

La Figura 16 nos muestra claramente que los valores medios obtenidos de actividad PPO total en las rodajas de ambos frutos son estadísticamente significativos.

ACTIVIDAD POLIFENOLOXIDASA (PPO)
CONGELACION Y CONSERVACION A -24°C

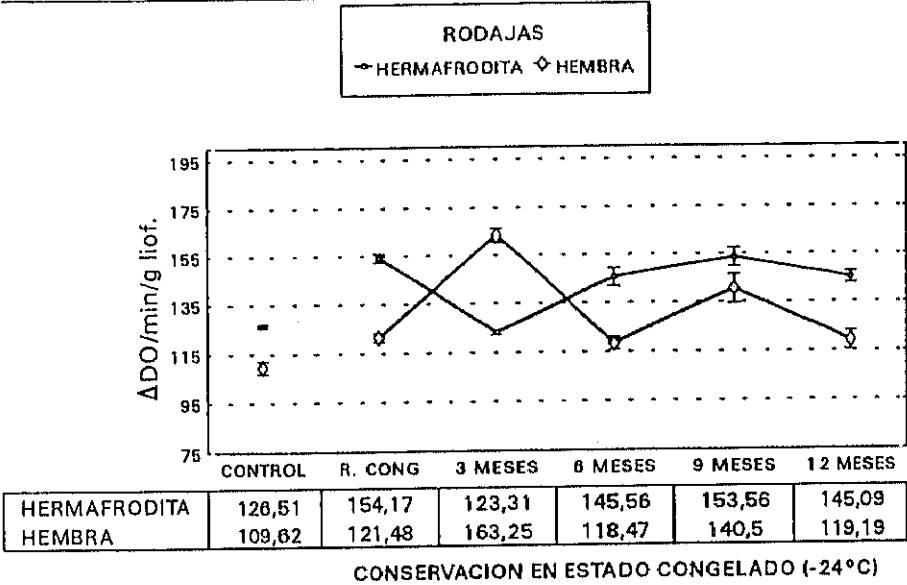


Figura 16: Actividad polifenoloxidasa total durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

b) Actividad PPO específica.

Los cambios que sufren ambos frutos como consecuencia de la maduración, del proceso de congelación y su posterior conservación en estado congelado, puede observarse en las Figuras 17 y 18.

* Efecto de la maduración.

Al inicio de la maduración se observa una diferencia extremadamente significativa ($p < 0,0001$) entre la actividad específica PPO de los frutos de

papaya hermafrodita y hembra, según se aprecia claramente en la Figura 17. Esta diferencia se hace significativa a partir de los 10 días de conservación, cuando los frutos han madurado plenamente.

En el fruto hermafrodita, se produce una disminución de la actividad PPO específica estadísticamente significativa entre todos los grados de maduración. Los frutos senescentes (sobremaduros) presentan valores de actividad PPO específica (18,96 Δ DO/min/mg prot ext) lo que supone un 16,32% menos que en el fruto inmaduro, Tabla 1 (anexo).

Este mismo hecho ocurre en el fruto hembra, ya que se produce una disminución de la actividad específica PPO durante la maduración que es estadísticamente significativa (34,83%).

ACTIVIDAD POLIFENOLOXIDASA ESPECIFICA

CONSERVACION FRIGORIFICA A 14°C

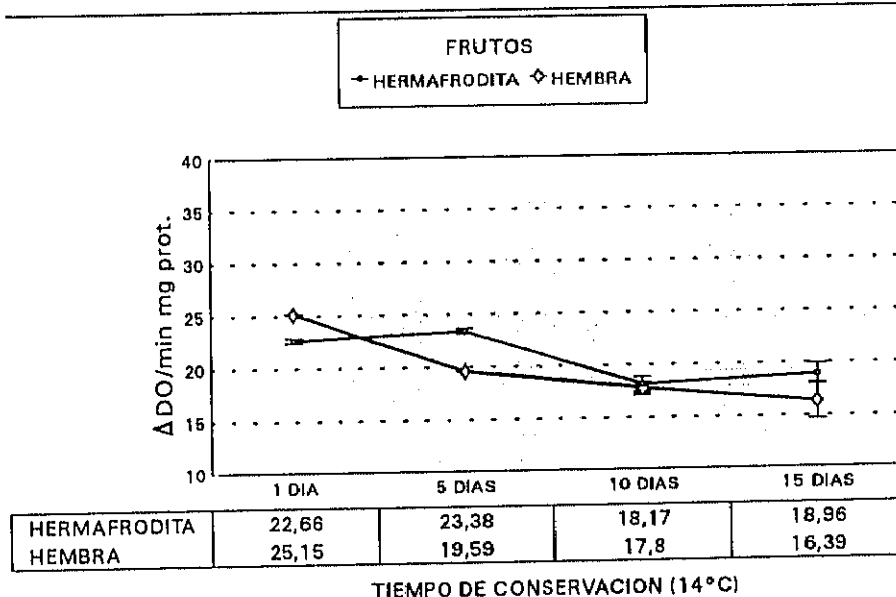


Figura 17: Actividad polifenoloxidasa específica durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

La actividad PPO específica de los frutos frescos fue, como se indica en la Figura 18, 4,81 $\Delta\text{DO}/\text{min}/\text{mg}$ de prot ext en frutos hermafroditas y 8,53 $\Delta\text{DO}/\text{min}$ mg de prot ext en frutos hembras, siendo estos valores estadísticamente diferentes.

El proceso de congelación produce un aumento estadísticamente significativo en la actividad específica PPO en ambos frutos (18,89% en rodajas hermafroditas y 11,15% en las hembras). Los valores de PPO específica de las rodajas de papaya recién congeladas son diferentes estadísticamente diferentes entre sí, 5,93 y 9,6 $\Delta\text{DO}/\text{min}/\text{mg}$ prot ext, respectivamente, Tabla 2 (anexo).

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

La actividad polifenoloxidasa específica aumenta de manera continua hasta los 9 meses de conservación en estado congelado en los frutos hermafroditas (24,07%). Sin embargo, al final del período de almacenamiento (12 meses), las rodajas congeladas presentan valores de PPO específica similares a los de los frutos frescos (5,95 $\Delta\text{DO}/\text{min}/\text{mg}$ prot ext), Tabla 2 (anexo).

En las rodajas congeladas de frutos hembras, también se observa un ligero incremento en la actividad PPO específica entre las muestra recién

congeladas y las conservadas 12 meses (8,48%). Sin embargo, no se aprecian diferencias significativas entre los restantes tiempos de almacenamiento, como puede observarse en la Figura 18.

Asimismo, existen diferencias significativas entre los valores de actividad polifenoloxidasas específica de ambos frutos, en cada período de conservación; siendo estos valores mayores en las rodajas congeladas que provienen de frutos hembras.

ACTIVIDAD POLIFENOLOXIDASA ESPECIFICA CONGELACION Y CONSERVACION A -24°C

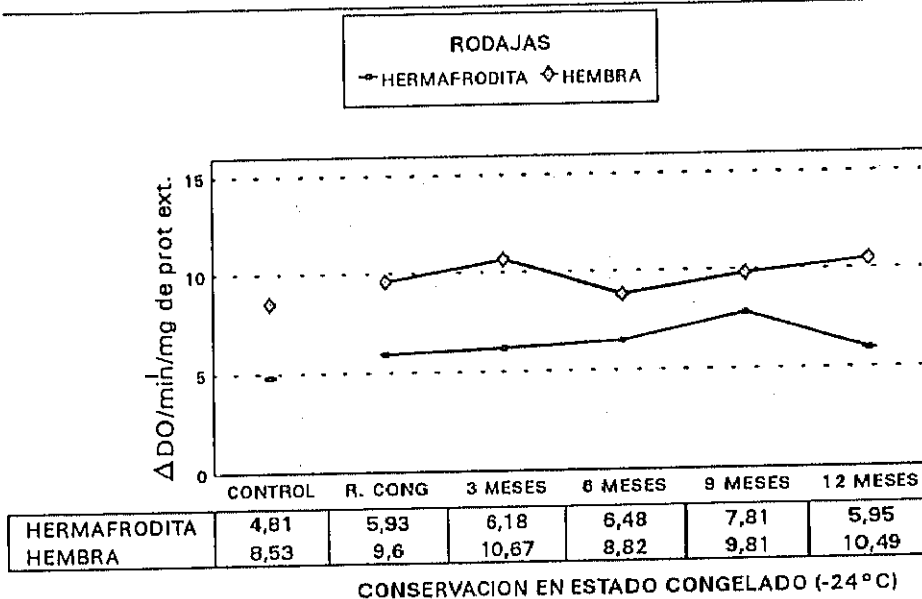


Figura 18: Actividad polifenoloxidasas específica durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.1.2.3.1. Discusión de los resultados.

Durante la maduración de ambos frutos, se observan fluctuaciones en la medida de la actividad PPO total, mientras que la actividad PPO específica disminuye, lo que estaría relacionado con una menor extracción de proteínas o una menor síntesis proteica.

El proceso de congelación produce un aumento estadísticamente significativo en la actividad PPO total y PPO específica, tanto en las rodajas de papaya hermafroditas como en las hembras. Sin embargo como el contenido de proteínas extraídas es menor una vez transcurrido el proceso de congelación, esto podría ser debido a una posible regeneración de la enzima. Esto coincide con lo expuesto por Marín y col. (1992) en otra fruta tropical como es el mango.

Durante la conservación al estado congelado, se producen fluctuaciones en la actividad PPO y PPO específica, que dependerán de las proteínas totales extraídas. Dichas variaciones en la actividad enzimática no son suficientes como para provocar cambios en el color de las rodajas durante la descongelación, puesto que estos enzimas están relacionados con el desarrollo de malos olores y sabores durante el almacenamiento de los productos en estado congelado (Galeazzi, 1984; Cano y col., 1990a; Lee, 1991).

4.1.3. CARACTERIZACION DE LAS PROTEINAS EXTRAIDAS Y DE LA ACTIVIDAD POD Y PPO.

4.1.3.1. PUESTA A PUNTO DE LAS TECNICAS ELECTROFORETICAS PARA LA DETERMINACION DE PROTEINAS EXTRAIDAS, POD Y PPO.

Se ensayó la realización de esta técnica de electroforesis con extractos muy concentrados (aproximadamente 70 mg de prot extraídas/g de producto), procedentes de fruto fresco o congelado y de liofilizado. Las bandas observadas tanto de POD, PPO como de proteínas fueron las mismas. Sin embargo se prefirió la utilización de producto liofilizado por estar estabilizado y, de esta manera, ser posible la determinación de estos parámetros en cualquier momento en que se requiriera.

También se ensayaron distintas condiciones de electroforesis (voltaje y amperaje) puesto que, al ser un extracto bruto no purificado, se necesitaban unas condiciones determinadas para que las proteínas evolucionaran de manera adecuada. Las condiciones más adecuadas fueron 400 voltios, 70 miliamperios y 70 watios. La duración de la electroforesis fue de aproximadamente 25 minutos y la temperatura 4°C.

4.1.3.1.1. Revelado de proteínas.

Se utilizó el método descrito en el apartado de materiales y métodos. Para comprobar si se manifestaban las bandas se utilizó un patrón comercial

de los Laboratorios Pharmacia, que contenía (Fosforilasa b, Seroalbúmina bovina (BSA), Ovoalbúmina, Anhidrasa Carbónica, Inhibidor de Tripsina de soja y α Lactoalbúmina).

También se ensayaron soluciones de patrones comerciales como pepsina, POD (HRP), α amilasa, BSA y pectina.

Una vez comprobada la aparición de todas las bandas correspondientes a dichas proteínas se procedió a ensayar el extracto enzimático, utilizándolo a distintas concentraciones. Cuando las concentraciones eran muy bajas (aproximadamente 14 mg prot extraídas/g de producto), el número de bandas que aparecían era menor que cuando el extracto estaba muy concentrado (alrededor de 70 mg de prot extraídas/g producto).

4.1.3.1.2. Revelado de la actividad POD.

Una vez transcurrida la electroforesis, se utilizaron distintos sustratos, a distintas concentraciones, en el revelado de la actividad de POD. Las soluciones empleadas contenían tampón fosfato 0,05 M pH 6,5, peróxido de hidrógeno 1,5% y una de las siguientes disoluciones:

- (A) Parafenilendiamina al 10%
- (B) Parafenilendiamina al 5%
- (C) Ortodianisidina al 10%
- (D) Ortodianisidina al 5%

La proporción utilizada fue; 50 : 3,7 : 7,4, respectivamente, siendo la

solución más adecuada la formada por tampón, peróxido de hidrógeno y la disolución (C) (Ortodianisidina al 10%). Las bandas observadas en todas ellas fueron las mismas pero la selección de esta combinación fue motivada por el hecho de que las soluciones que contenían parafenilendiamina provocaban un oscurecimiento del gel, que hacía menos perceptibles las bandas. La disolución (D), ortodianisidina al 5% no se utilizó porque las bandas que se revelaron eran ligeramente más tenues.

Además, para comprobar que la enzima que se estaba revelando era sólo POD se utilizó una solución de este enzima comercial. En el mismo gel se introdujo en un pocillo POD comercial y en otro PPO comercial. Una vez finalizada la electroforesis se introdujeron en una solución que contenía ortodianisidina al 10% revelándose sólo las bandas en el pocillo en el que se había introducido POD comercial.

4.1.3.1.3. Revelado de la actividad PPO.

En este caso, se utilizaron soluciones de 4-metilcatecol, Catecol y ácido Gálico a distintas concentraciones disueltos en tampón fosfato 0,05 M pH 6,5.

- (A) Catecol 0,03 M.
- (B) Catecol 0,07 M.
- (C) 4-metil Catecol 0,003 M.
- (D) 4-metil Catecol 0,007 M.
- (E) Acido Gálico 0,003 M.
- (F) Acido Gálico 0,007 M.

Transcurridos aproximadamente 10 minutos, empiezan a aparecer bandas en los geles inmersos en estas soluciones. Sin embargo, las soluciones de catecol y 4-metil catecol, comienzan a teñir el fondo del gel de color rosa pálido con lo que las bandas pierden nitidez. A los 20 minutos se comprobó que cuando se pasaban los geles a una solución de etanol se manifestaban bandas que no eran prácticamente detectables sin este tratamiento. El etanol produce una deshidratación del gel de forma que las bandas se observan mucho más claras (Galeazzi, comunicación personal).

Para el revelado de PPO se eligió la solución que contenía ácido Gálico al 0,003 M porque las bandas eran más nítidas que con las otras soluciones.

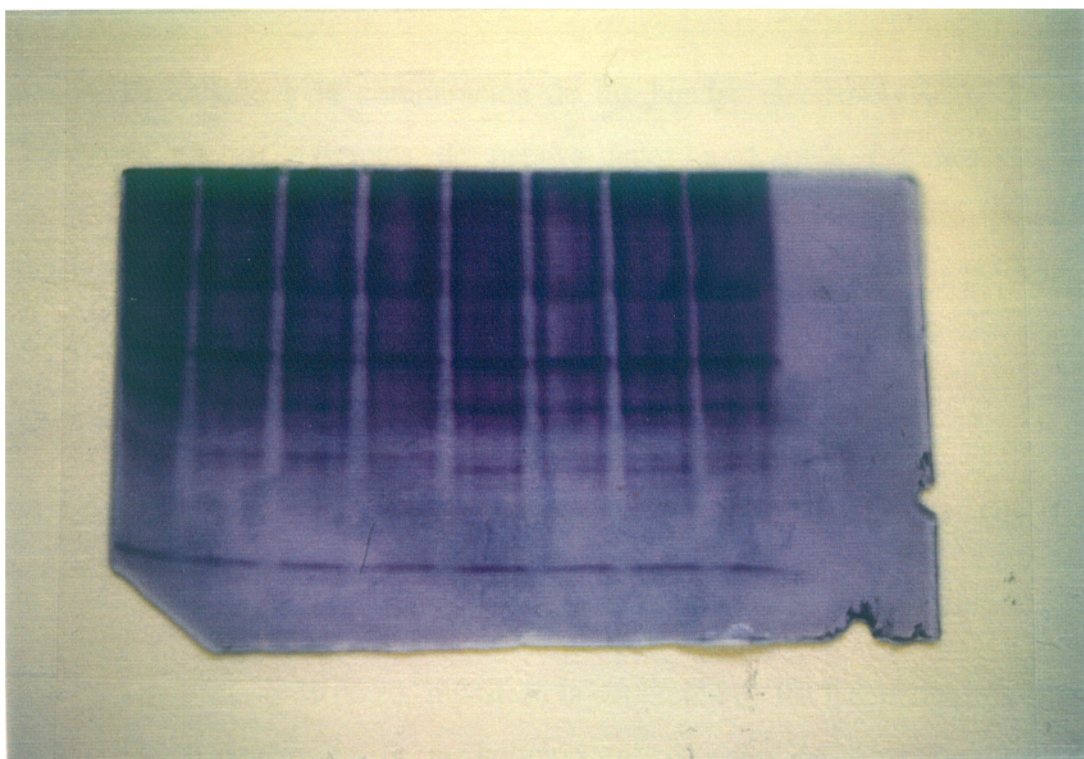
También se comprobó que si se introduce el gel en etanol antes de que aparezcan todas las bandas, algunas de ellas no se manifiestan, posiblemente porque el alcohol produce una desactivación de esos isoenzimas de PPO.

Igual que en el apartado anterior, se comprobó que esta solución sólo revelaba las bandas con actividad PPO. Para ello, una vez transcurrida la electroforesis, los pocillos cargados con POD y PPO comercial se introdujeron en una solución de ácido Gálico 0,003 M, revelándose sólo las bandas en el pocillo que se había cargado con PPO comercial.

4.1.3.2. EVOLUCION DE LAS PROTEINAS EXTRAIDAS.

La forma de determinar exactamente si se ha producido o no evolución en el contenido de proteínas extraídas, sería mediante la utilización de un densitómetro de geles. Sin embargo, al no disponer de este equipo se realizó

una apreciación lo más objetiva posible de la intensidad de las bandas. Este método ha sido utilizado en numerosos trabajos de investigación sobre revelado de proteínas en gel en extractos con una baja concentración proteica. En la Fotografía 11, se observan los resultados obtenidos de las muestras analizadas en el presente trabajo de investigación.



Fotografía 11: Bandas electroforéticas de proteínas.

4.1.3.2.1. Discusión de los resultados.

De la observación directa de los geles revelados sólo se puede destacar la existencia de pocas bandas y no muy intensas, lo que indica un bajo contenido de proteínas tanto en las papayas hermafroditas como en las

hembras. Además, el patrón proteico parece, en principio, muy semejante en las papayas de ambos sexos.

Durante los primeros días de maduración y cuando el fruto alcanzan la senescencia, se observan menos bandas que cuando el fruto alcanza su madurez (10 días de maduración a 14°C).

En cuanto a la comparación de las bandas electroforéticas, que se observan en los extractos de papaya antes y después del proceso de congelación, así como durante la conservación al estado congelado, podrían variar en su intensidad, aunque este hecho podría comprobarse de manera más fehaciente con la utilización de un densitómetro de geles.

4.1.3.3. EVOLUCION DEL PATRON ISOENZIMATICO DE LA PEROXIDASA.

Las Figuras 19 Y 20, muestran la evolución de los isoenzimas de POD como consecuencia de la maduración, el proceso de congelación y la conservación al estado congelado a -24°C.

*** Efecto de la maduración.**

Como puede observarse en la Figura 19 tanto en la papaya hermafrodita como en la hembra, se manifiestan 2 bandas con una movilidad relativa (R_f) de:

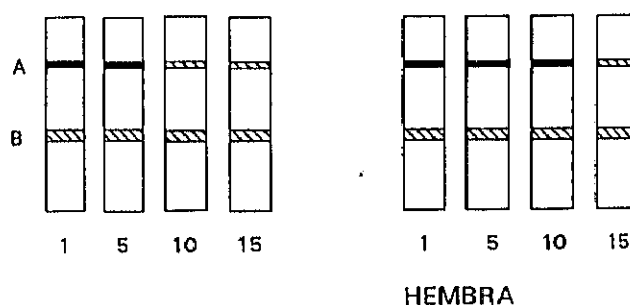
Banda A: $R_f=0,24$

Banda B: $R_f=0,58$

En la papaya hermafrodita, la banda A es más intensa en el fruto preclimatérico y a los 5 días de maduración, perdiendo intensidad a los 10 y 15 días. Por el contrario, la banda B tiene la misma intensidad durante la maduración del fruto.

En la papaya hembra, la intensidad de la banda A es la misma hasta los 10 días de maduración, disminuyendo cuando el fruto alcanza la senescencia (15 días). Al igual que el fruto hermafrodita, la banda B tiene la misma intensidad a lo largo de la maduración.

EVOLUCION DEL PATRON ISOENZIMATICO DE PEROXIDASA DURANTE LA MADURACION



* DIAS DE CONSERVACION A 14°C

■ MUY INTENSA

▨ INTENSA

Figura 19: Evolución del patrón isoenzimático de peroxidasa durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

El proceso de congelación produce un ligero aumento de la intensidad de la banda B en el fruto hermafrodita, mientras que en el hembra no se observa ningún cambio.

* Evolución durante la congelación en estado congelado.

A los tres meses de conservación a -24°C se observa en las muestras procedentes de los frutos de papaya hermafrodita y hembra, la aparición de una nueva banda. Esta banda es más intensa en los extractos de frutos hermafroditas.

Banda C: $R_t=0,39$

Hay que destacar la desaparición de la banda B en las muestras procedentes de frutos hermafroditas a partir de los 6 meses de conservación en estado congelado. Además a los 12 meses de conservación se observa un aumento en el grosor de la banda A.

Sin embargo, en las muestras que procedían de frutos hembras, esta banda B, permanece con la misma intensidad a lo largo de la conservación a -24°C .

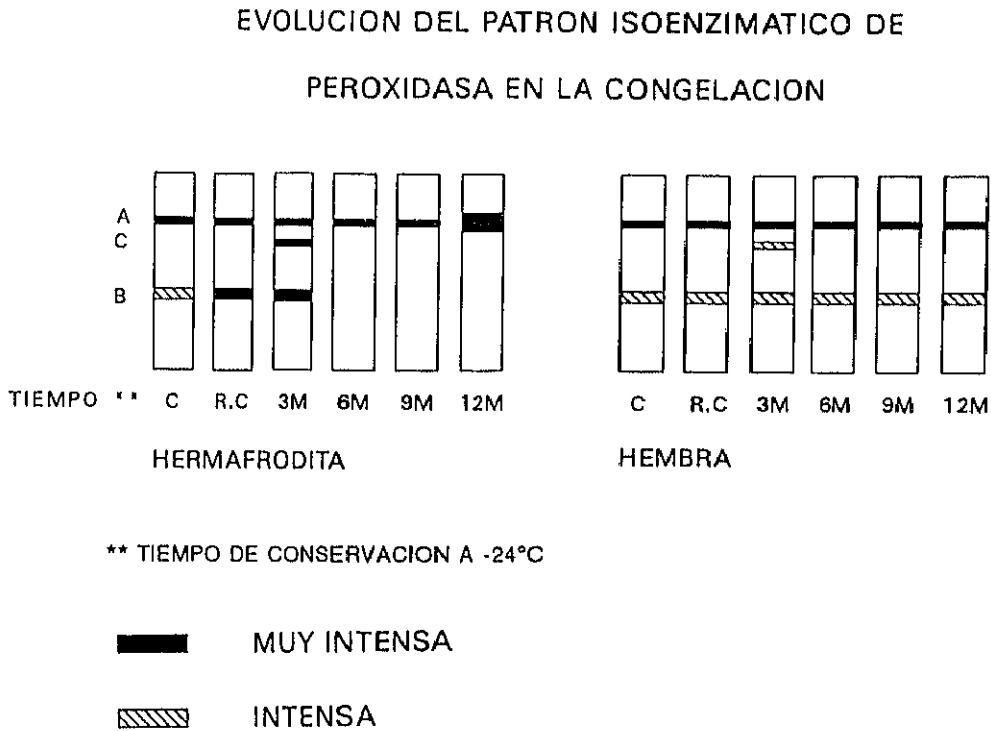


Figura 20: Evolución del patrón isoenzimático de peroxidasa durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.1.3.3.1. Discusión de los resultados

Las variaciones observadas en el patrón isoenzimático de POD de las rodajas de papaya hermafrodita y hembra durante la maduración de los frutos, podrían ser debidas a una mayor susceptibilidad de la banda A, la más catiónica a una ligera pérdida en su actividad. Este hecho coincide con el observado por Marín y Cano (1992) para el mango. La banda B, más

aniónica, permanece con la misma intensidad a lo largo del proceso de maduración de los frutos hermafroditas y hembras. El comportamiento de las bandas sigue la misma tendencia que la actividad de POD determinada mediante espectrofotometría expresada como $\Delta DO/min/g$ liofilizado.

El proceso de congelación pone de manifiesto un aumento de la intensidad de la banda B en las rodajas procedentes de frutos hermafroditas mientras que en las hembras no se observaba dicho fenómeno. Este incremento en la intensidad de la banda B, la más aniónica, podría ser debido a la conversión de formas catiónicas en aniónicas por las bajas temperaturas. Delincée y col. (1973), Adams (1978) y Marín y Cano (1993), ya observaron cambios en el patrón isoenzimático de la POD, así como la aparición de nuevos isoenzimas al utilizar tratamientos de calor o frío.

A los tres meses de conservación en estado congelado se produce la aparición de una nueva banda, la C, que es más intensa en las rodajas procedentes de frutos hermafroditas. Mientras que las bandas A y B mantienen su intensidad. Este hecho podría ser debido a una regeneración de la actividad POD o a la mayor facilidad de extracción de este isoenzima que sería liberado a causa del daño que la congelación produce sobre la estructura de la pared celular. Este efecto también se observa en la determinación espectrofotométrica de la actividad POD. A continuación, se observa la desaparición de las bandas C y B en las muestras hermafroditas, lo que podría deberse a una reconversión de los isoenzimas catiónicos en aniónicos o bien a una pérdida en la actividad a consecuencia del almacenamiento del producto a $-24^{\circ}C$. Sin embargo, este hecho no se observa en las muestras conservadas en estado congelado procedentes de frutos hembras, pues a partir de los 6

meses de conservación, el patrón isoenzimático se corresponde con el que tenía el fruto control.

4.1.3.4. EVOLUCION DEL PATRON ISOENZIMATICO DE LA POLIFENOLOXIDASA.

Como se comentó en la puesta a punto del revelado de la actividad de PPO, la utilización de etanol después de haber teñido los geles inmersos en ácido gálico, pone de manifiesto bandas apenas detectables e incluso indetectables al utilizar sólo una solución de ácido gálico 0,003 M.

En las Figuras 21, 22, 23 y 24 se observa la evolución del patrón isoenzimático de PPO durante la maduración, proceso de congelación y conservación a -24°C de frutos de papaya hermafrodita y hembra.

*** Efecto de la maduración.**

La maduración provoca cambios significativos en el número e intensidad de las bandas de PPO de frutos hermafroditas y hembras.

En las muestras de papaya hermafrodita se observa que en los frutos preclimáticos aparecen 6 bandas de intensidad variable, Figura 21. A los 5 días de conservación a 14°C, la banda C pierde intensidad; desapareciendo entre los 10 y 15 días. Además, la banda B pierde intensidad en este mismo

período de conservación a 14°C. La banda F también pierde intensidad en los frutos sobremaduros.

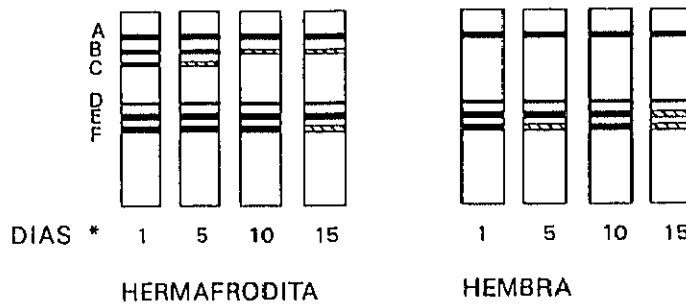
En los frutos hembras aparecen sólo 4 bandas (A,D,E,F). La banda F pierde intensidad a los 5 y 15 días de maduración. La banda C pierde intensidad únicamente cuando el fruto alcanza la senescencia.

La utilización de etanol produce una intensificación de la banda A tanto en las muestras hermafroditas como en las hembras. Además, en las muestras hermafroditas se manifiesta la existencia de la banda C en los frutos verdes y conservados durante 5 días, así como de la banda B a los 10 y 15 días de maduración.

La movilidad relativa de las bandas del patrón isoenzimático de PPO en los frutos de papaya hermafroditas y hembras resultó ser:

Banda A:	$R_f=0,19$
Banda B:	$R_f=0,28$
Banda C:	$R_f=0,37$
Banda D:	$R_f=0,46$
Banda E:	$R_f=0,55$
Banda F:	$R_f=0,64$

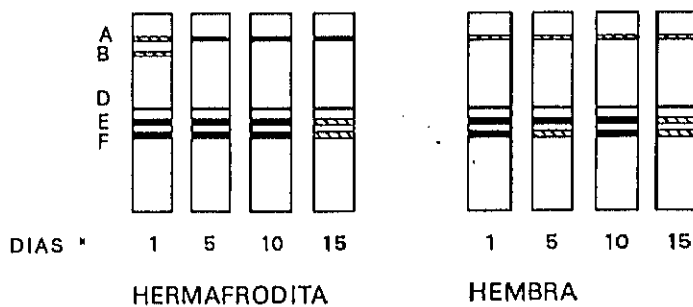
EVOLUCION DEL PATRON ISOENZIMATICO DE
POLIFENOLOXIDASA DURANTE LA MADURACION



* DIAS DE CONSERVACION A 14°C

Figura 21: Evolución del patrón isoenzimático de polifenoloxidasas durante la conservación frigorífica (14°C) al revelar la actividad con ácido gálico 0,003 M.

EVOLUCION DEL PATRON ISOENZIMATICO DE
POLIFENOLOXIDASA DURANTE LA MADURACION



* DIAS DE CONSERVACION A 14°C

■ MUY INTENSA

▨ INTENSA

Figura 22: Evolución del patrón isoenzimático de polifenoloxidasas durante la conservación frigorífica (14°C) al revelar la actividad con ácido gálico 0,003 M y etanol.

* Efecto del proceso de congelación.

El proceso de congelación produce cambios en patrón isoenzimático de PPO tanto en las muestras procedentes de frutos hermafroditas como hembras.

La banda A disminuye en intensidad en ambas muestras. La banda B desaparece como consecuencia del proceso de congelación en los extractos procedentes de papaya hermafrodita mientras que las bandas E y F se intensifican.

* Evolución durante la maduración en estado congelado.

A los tres meses de conservación a -24°C , se produce la reaparición de la banda B en las muestras de frutos hermafroditas, desapareciendo definitivamente a partir del 6º mes de conservación en estado congelado. El resto de las bandas permanece con el mismo grosor e intensidad a partir del 6º mes de conservación.

En las muestras procedentes de frutos hembras, las bandas E y F disminuyen en intensidad desde el 3º mes hasta el final de la conservación al estado congelado. En la banda A se observa una disminución de la intensidad a los 9 meses de conservación a -24°C .

La utilización de etanol produce la manifestación la banda B a los tres meses de conservación en estado congelado de los frutos hermafroditas así

como una intensificación de las bandas E y F a los 12 meses de conservación a -24°C . En las muestras procedentes de frutos de papaya hembra el etanol intensifica las bandas E y F a partir del 3^{er} mes de conservación en estado congelado y de la banda A a partir del 9^o mes de conservación.

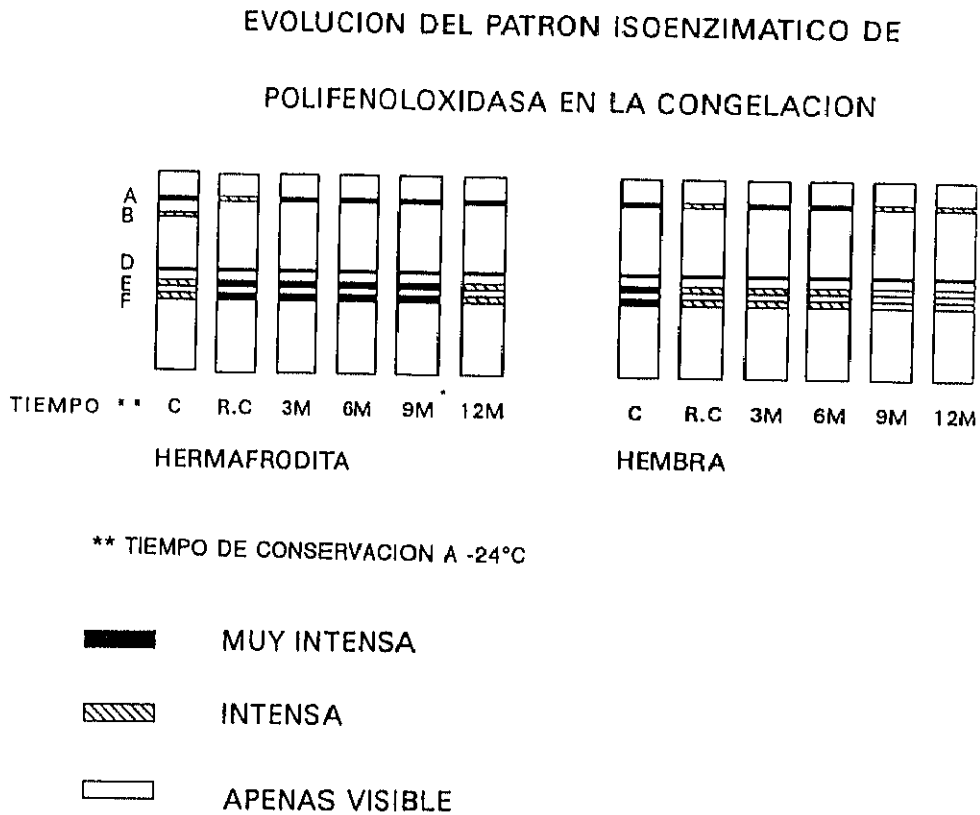
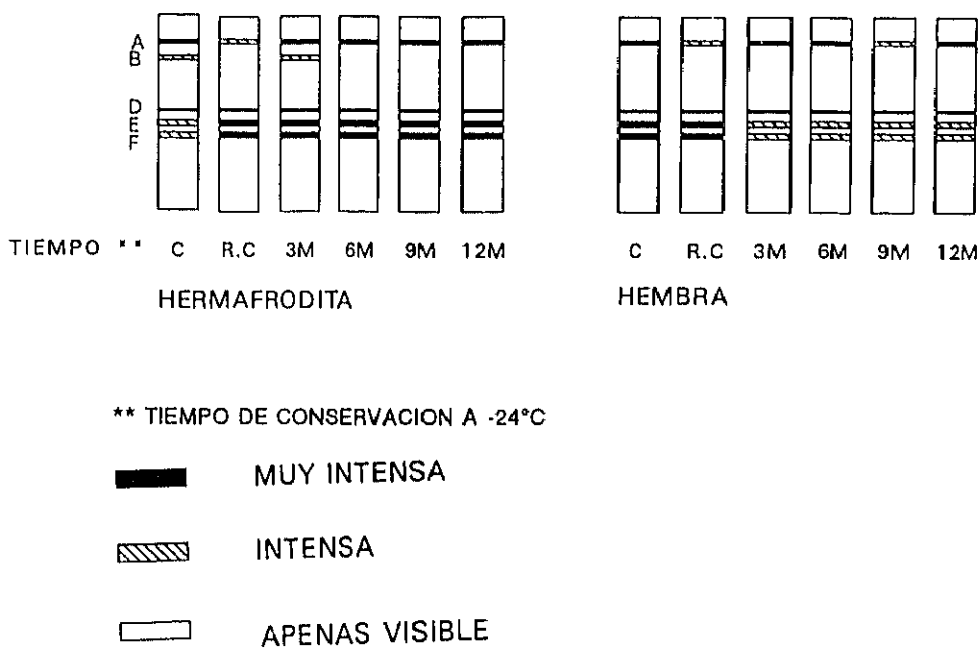


Figura 23: Evolución del patrón isoenzimático de polifenoloxidasasa durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C) al revelar con ácido gálico 0,003M.

EVOLUCION DEL PATRON ISOENZIMATICO DE
POLIFENOLOXIDASA EN LA CONGELACION



** TIEMPO DE CONSERVACION A -24°C

■ MUY INTENSA
▨ INTENSA
□ APENAS VISIBLE

Figura 24: Evolución del patrón isoenzimático de polifenoloxidasasa durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C) al revelar con ácido gálico 0,003M y etanol.

4.1.3.4.1. Discusión de los resultados.

La utilización de distintos sustratos para revelar la actividad PPO originaba patrones isoenzimáticos muy diferentes. De esta manera, la utilización de catecol y 4-metilcatecol originaba patrones isoenzimáticos diferentes que cuando se utilizaba ácido gálico. Este hecho ya fue comentado por Kahn (1976) al hacer un estudio sobre el patrón isoenzimático de aguacate. El patrón con mayor cantidad de bandas fue el que se obtenía al revelar con

ácido gálico, de ahí que se eligiera este sustrato para detectar más fácilmente la aparición o desaparición de isoenzimas durante la maduración y el procesado.

Hay que destacar que el patrón isoenzimático de PPO a lo largo de la maduración es muy diferente en las muestras hermafroditas y hembras. Las muestras hembras no se modifican prácticamente, sólo a los 5 y a los 15 días de maduración la banda más aniónica, la F, pierde intensidad ligeramente y la banda E también lo hace a los 15 días de maduración. Este ligero cambio en la intensidad de las bandas más aniónicas podría ser consecuencia de una reconversión en isoenzimas más catiónicos o a la pérdida de actividad de dichos isoenzimas. Además la tendencia seguida por los valores de actividad de PPO determinados mediante espectrofotometría es semejante a la mayor o menor intensidad de estas bandas de PPO.

En las muestras hermafroditas se observa la pérdida de la banda C a partir de los 10 días de conservación así como una pérdida en la intensidad de las bandas a medida que avanza la maduración de los frutos. Cuando el fruto alcanza la senescencia las bandas B y F pierden intensidad lo que se correlaciona con una pérdida de la actividad de PPO determinada por espectrofotometría. Este hecho puede ser debido a que cuando el fruto alcanza la senescencia, se produce una disminución en la síntesis de proteínas.

El patrón isoenzimático de las rodajas de papaya antes de ser sometidas al proceso de congelación es característico para cada sexo. El proceso de congelación provoca que el patrón isoenzimático sea el mismo para las muestras hermafroditas y las hembras. Sin embargo a los 3 meses de conservación a -24°C, vuelve a aparecer la banda B, lo que podría deberse

posiblemente a una regeneración de este isoenzima con el almacenamiento a bajas temperaturas. Sin embargo, a partir de los 6 meses de conservación a -24°C , dicha banda (B), desaparece definitivamente.

En las muestras procedentes de rodajas de frutos hembras conservadas en estado congelado, sólo se apreciaron pérdidas en la intensidad de algunas bandas, posiblemente debidas a una pérdida de la actividad parcial reversible de dichos isoenzimas.

4.2. CARACTERISTICAS NUTRICIONALES. COMPUESTOS RELACIONADOS.

4.2.1. SOLIDOS SOLUBLES.

Los resultados obtenidos referentes al contenido en sólidos solubles de los frutos de papaya hermafrodita y hembra, durante la maduración de los mismos y su posterior procesado, se muestran en las Figuras 25 y 26.

*** Efecto de la maduración.**

El contenido en sólidos solubles aumenta con la maduración de los frutos, Figura 25. En las muestras de papaya hermafrodita este aumento no se hace significativo hasta los 15 días de conservación, alcanzando valores cercanos a 14 °Brix. En los frutos hembras dicho aumento en sólidos solubles

comienza a ser estadísticamente significativo a partir de los 5 días de conservación a 14°C.

Asimismo, existen diferencias estadísticamente significativas en el contenido en sólidos solubles entre los frutos hermafroditas y hembras. A lo largo de la maduración se produce en los frutos hermafroditas un incremento de 13,05 a 14,33 °Brix; mientras que en las hembras este incremento fue de 13,63 a 15,38 °Brix. Las muestras hembras mantuvieron en todo momento valores superiores a las hermafroditas, Tabla 3 (anexo).

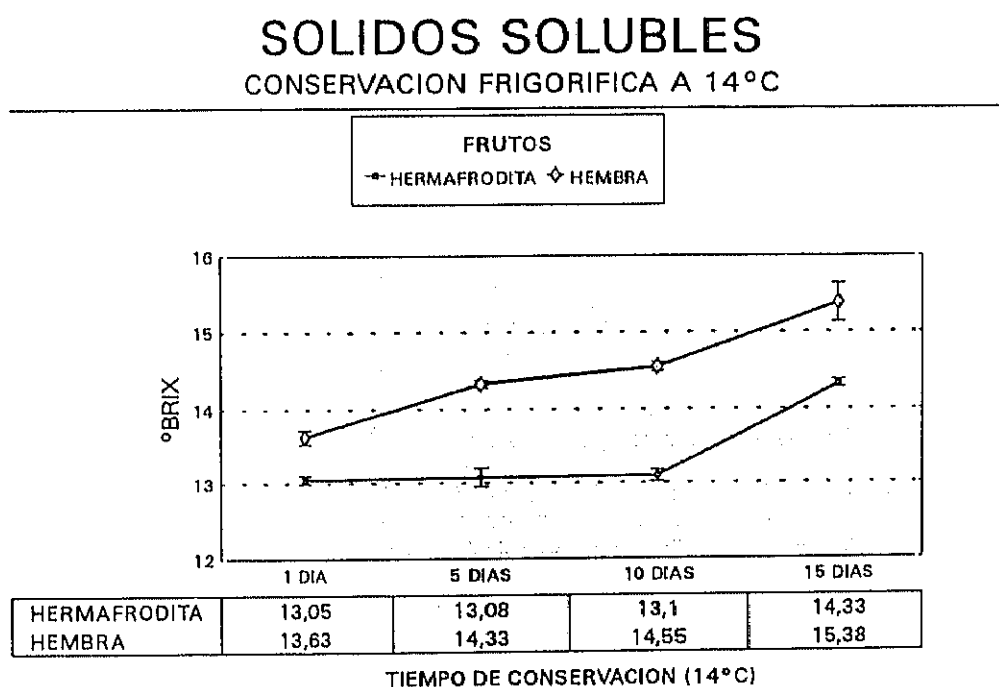


Figura 25: Evolución de los sólidos solubles durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

La diferencia en el contenido en sólidos solubles en ambos frutos frescos, antes del procesado, es estadísticamente muy significativa; mostrando valores de 12,8 °Brix las rodajas de papaya hermafrodita y 12,03 °Brix las hembras, Tabla 4 (anexo).

La congelación provoca un aumento, estadísticamente significativo, del contenido en sólidos solubles (3,76%) en las rodajas de papaya hermafrodita recién congeladas, mientras que en la papaya hembra no se observa esta diferencia, Figura 26. Por lo tanto, existen diferencias significativas en el contenido en sólidos solubles entre las muestras recién congeladas de ambos frutos.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

En las rodajas de papaya hermafrodita, no se producen diferencias significativas entre el contenido en sólidos solubles del producto recién congelado y las muestras conservadas durante 3, 6 y 9 meses, disminuyendo hasta 11,98 °Brix a los 12 meses de almacenamiento, lo que se traduce en una pérdida de este parámetro cercana al 9,93 %, respecto a la muestra recién congelada, Figura 26.

El contenido en sólidos solubles de las rodajas de papaya hembra, aumenta de forma no significativa durante la conservación en estado

congelado. Este incremento supone un 3,38% al final del período de conservación, 12 meses respecto a las rodajas recién congeladas.

El comportamiento del contenido en sólidos solubles, de las rodajas congeladas de ambos frutos, es significativamente diferente a lo largo de todo el período de conservación en estado congelado según se muestra en la Tabla 4 (anexo).

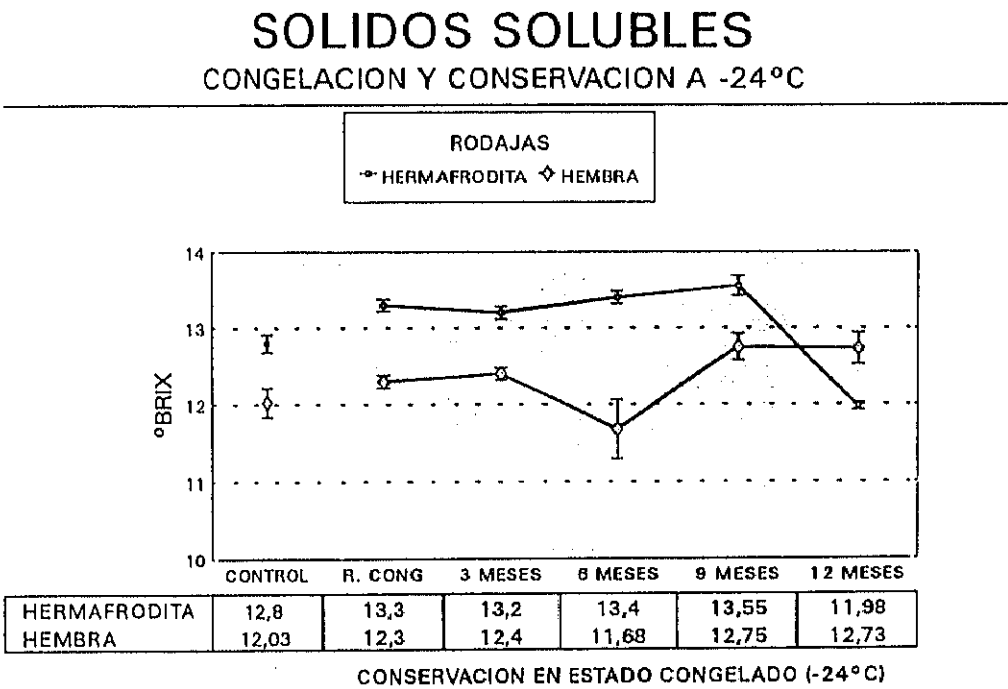


Figura 26: Evolución de los sólidos solubles durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.2.1.1. DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

Los azúcares juegan un importante papel en la composición de las papayas, no sólo por ser la principal fuente energética, sino porque le proporcionan un sabor/olor y un dulzor característico. El contenido en azúcar puede variar según la especie, condiciones de cultivo... El contenido en azúcares solubles determinado en el presente trabajo en frutos de papaya hermafrodita y hembra (12,8 y 12,3°Brix respectivamente), coincide con el obtenido por Brekke y col. (1973) en frutos de papaya del grupo Solo de Hawaii (11,5-13,5°Brix).

Durante la maduración de los frutos, el contenido en azúcares solubles aumenta considerablemente como ocurre en otras especies frutales. Se produce una metabolización de los polisacáridos en azúcares y el contenido en agua disminuye no sólo por la transpiración del fruto sino por la acumulación de carbohidratos y otros compuestos (Lakshminarayana y col., 1970).

El proceso de congelación de las rodajas de papaya, así como su posterior conservación en estado congelado, provoca modificaciones en la pared celular manifestándose un aumento en la cantidad de sólidos solubles que se van a poder extraer.

Durante la conservación en estado congelado, las rodajas de papaya hembras son las que sufren cambios más notables en este parámetro, siendo posiblemente atribuibles a una menor rigidez de su estructura celular y por tanto, una mayor facilidad de ruptura de las membranas celulares. Este hecho, provocaría la solubilización de los azúcares de constitución más solubles y como consecuencia una cuantificación más elevada.

4.2.2. CONTENIDO EN AGUA Y EXUDADO.

El agua es el componente mayoritario de frutas y hortalizas. El contenido en agua de un alimento, es un factor de vital importancia para la estabilidad del resto de los compuestos presentes, pues es el medio en el que transcurren todas las reacciones del metabolismo catalizadas por enzimas, el transporte de los elementos nutritivos y la transferencia de energía química (Lehninger, 1986).

La evolución del contenido de agua de las muestras ensayadas de papaya se reflejan en las Figuras 27 y 28.

*** Efecto de la maduración.**

Existen diferencias estadísticamente significativas en el contenido de agua, entre ambos frutos, siendo mayor en el fruto hermafrodita que en el hembra, Figura 27.

En el fruto hermafrodita se puede apreciar un ligero aumento que en ningún momento es estadísticamente significativo y un ligero descenso en el último grado de madurez determinado. Por el contrario en el fruto hembra se produce una disminución que sólo es significativa si se compara el contenido en agua al principio y al final de la maduración, Tabla 3 (anexo).

CONTENIDO EN AGUA

CONSERVACION FRIGORIFICA A 14°C

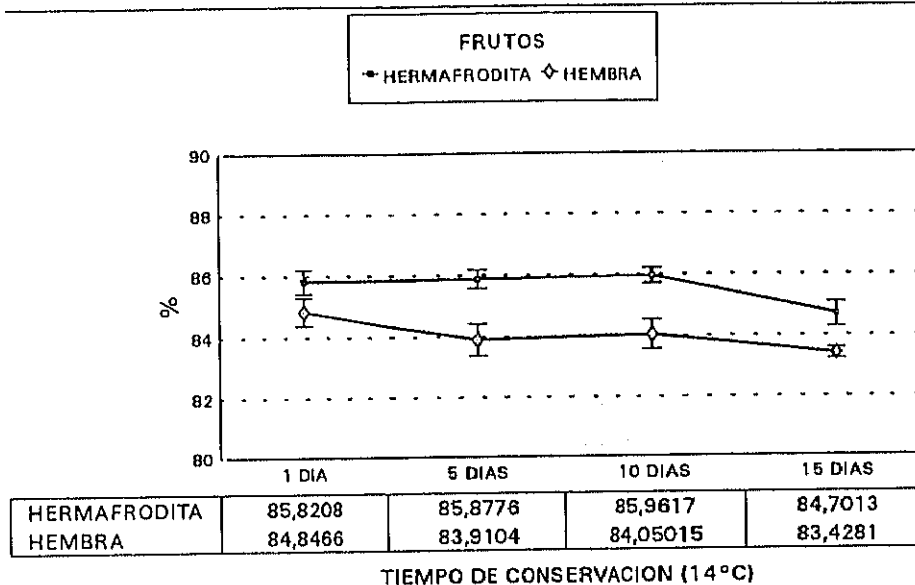


Figura 27: Evolución del contenido en agua durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

El contenido en agua es significativamente mayor en los frutos hermafroditas que en los hembras (85,96% y 84,05% respectivamente), Tabla 4 (anexo).

Una vez realizado el proceso de congelación no existen diferencias significativas entre el contenido de agua de las rodajas de ambos frutos pues se produce un aumento del contenido de agua en las rodajas hembras, Figura 28.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

Durante la conservación al estado congelado se producen diferencias estadísticamente significativas entre el 3^{er} mes de almacenamiento y el control, el recién congelado, y el resto de muestras almacenadas a -24°C , pues fue cuando mayor porcentaje de agua se determinó. En los frutos hembras no se producen diferencias estadísticamente significativas durante toda la conservación salvo un aumento (1,11%) hacia el 9^o mes de almacenamiento. Entre los frutos existen diferencias no significativas a los 6 y 9 meses de conservación, Tabla 4 (anexo).

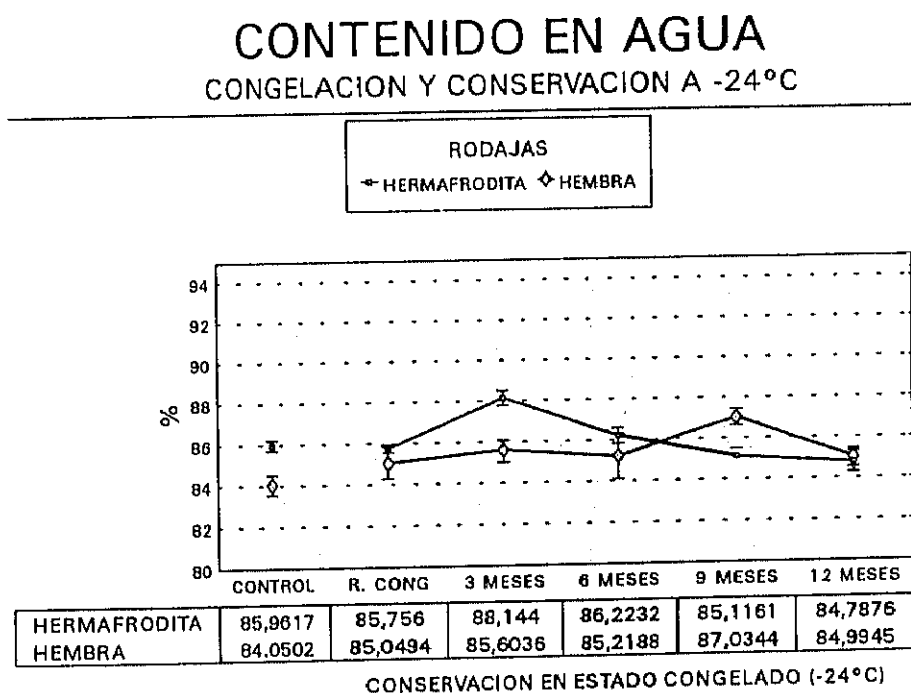


Figura 28: Evolución del contenido en agua durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

En cuanto al exudado, la cuantificación en todas las muestras de papaya hermafrodita, fue significativamente mayor que en las hembras. Así, en el producto recién congelado el exudado en las rodajas de papaya hermafroditas descongeladas fue de 6,01 ml/100 g de producto, mientras que en las rodajas de papaya hembra fue 2,82 ml/100 g de producto. En las muestras de papaya hermafrodita, se observó un incremento del exudado muy significativo a los 3 meses de conservación, alcanzando 9,04 ml/100 de producto, para después fluctuar en los siguientes meses de almacenamiento, Figura 29. El comportamiento del exudado en los frutos hembras fue significativamente diferente. A lo largo del período de conservación se produjo una disminución produciéndose el menor exudado a los 6 meses de conservación (0,45 ml/100 g de producto), Tabla 14 (anexo).

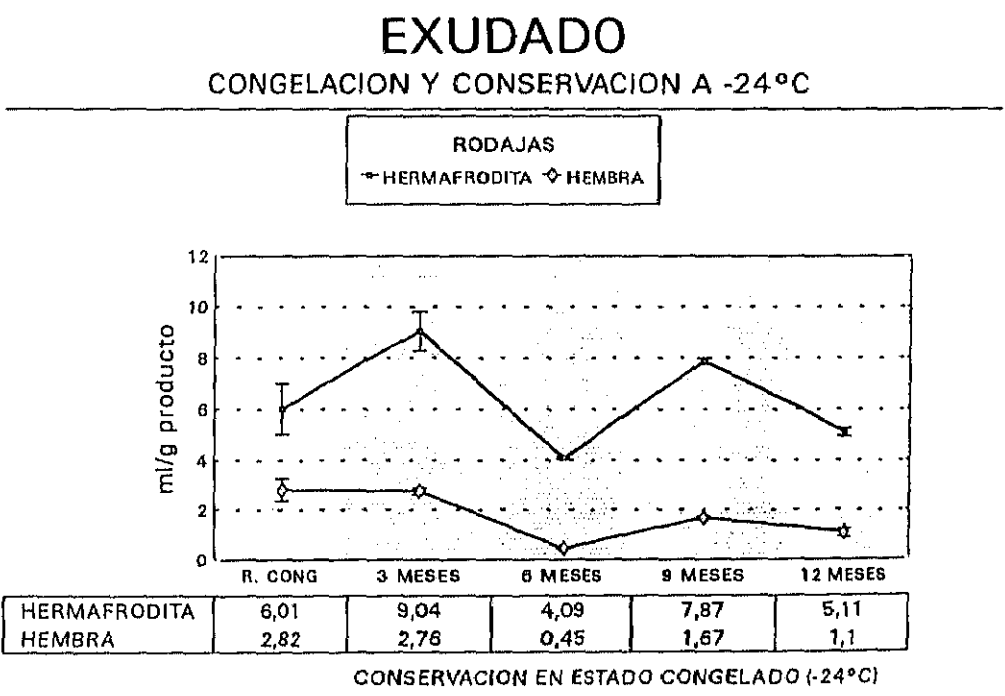


Figura 29: Evolución de la cantidad de exudado durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.2.2.1. DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

Los frutos conservados en régimen de frío sufren una pérdida en su contenido en agua por la transpiración y por la acumulación de carbohidratos y otros compuestos (Lakshminarayana y col. 1973). Este evento fisiológico está de acuerdo con los resultados obtenidos tanto en los frutos de papayas hermafroditas como en las hembras.

El proceso de congelación provoca un ligero aumento en el contenido de agua de las rodajas de papaya hembra, lo que posiblemente puede ser debido a la ruptura de la estructura celular por el proceso de congelación de los tejidos.

Durante la conservación de las rodajas de papaya hembras congeladas, se produce un aumento paulatino del contenido de agua hasta el 9º mes de conservación, debido a lo anteriormente expuesto. No obstante, a los 12 meses de conservación el contenido en agua es el mismo que en las rodajas recién congeladas, con lo que puede decirse que el almacenamiento en estado congelado de las rodajas de papaya hembra no afecta a su contenido en agua.

Sin embargo, en las rodajas de papaya hermafroditas congeladas, el contenido en agua aumenta hasta los 3 meses de almacenamiento debido posiblemente a la formación de grandes cristales de hielo extracelulares que rompen las células liberándose su contenido. A lo largo del resto de la conservación al estado congelado, se observa una disminución en el contenido en agua debido posiblemente a que se producen desecaciones superficiales de las rodajas provocadas por pequeñas fluctuaciones en la temperatura de

conservación (-24°C), que dan lugar a la aparición de escarcha dentro de las bolsas de producto.

En el exudado, que se libera de los alimentos al ser descongelados, se pierden sustancias solubles (vitaminas, pigmentos, azúcares...). Este factor puede afectar por tanto a la calidad de los productos congelados. En el caso de las rodajas de papaya descongeladas el exudado fue relativamente pequeño tanto en las recién congeladas como en aquellas conservadas durante distintos meses a -24°C, lo que contribuye a la buena aptitud a la congelación de este fruto. Como puede observarse en los resultados, las rodajas de papaya hembras exudan en la descongelación menos que las hermafroditas, por lo que puede decirse que pierden menos sustancias solubles.

4.2.3. SOLIDOS TOTALES.

La evolución en el contenido en sólidos totales se reflejan en las Figuras 30 y 31.

*** Efecto de la maduración.**

La variación que se produce en el contenido de sólidos totales durante la maduración, no fue estadísticamente significativo en los 10 primeros días de conservación en los frutos hermafroditas; aumentando ligeramente (7,32%) al final de la conservación, Figura 30.

En los frutos hembras, se observa una evolución similar, es decir, un incremento continuo durante la maduración.

Por otro lado, existieron diferencias significativas en los sólidos totales entre frutos hermafroditas y hembras siendo mayor el contenido de estos últimos, Tabla 3 (anexo).

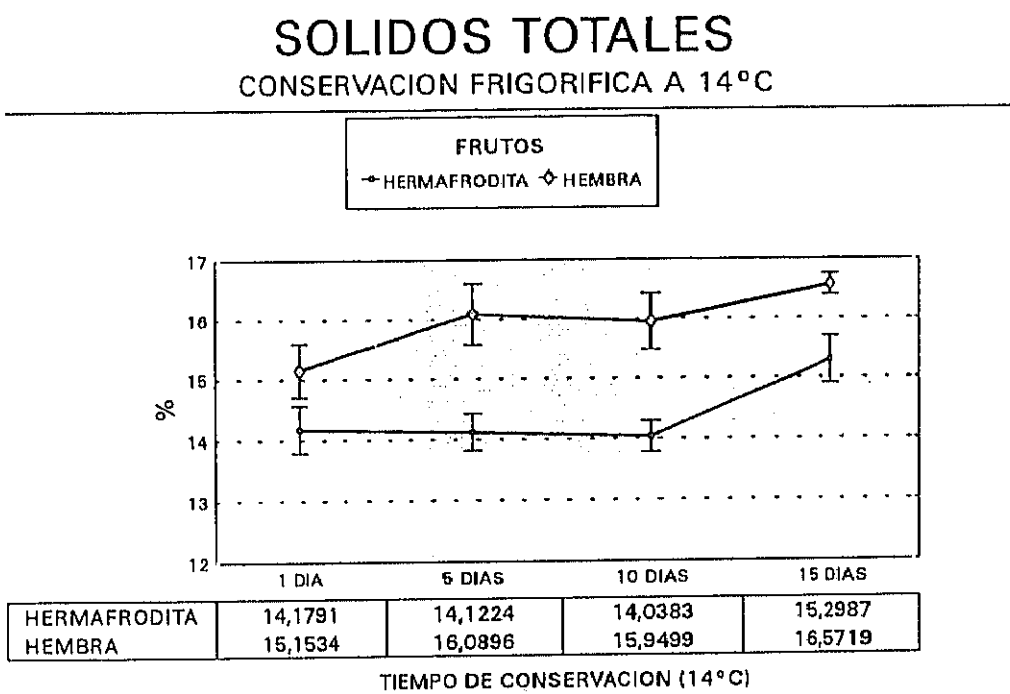


Figura 30: Evolución de los sólidos totales durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

El contenido en sólidos totales es mayor en frutos hembras (15,95%)

que en los hermafroditas (14,03%), antes de la realización del proceso de congelación, Figura 31.

El proceso de congelación produce un efecto significativo en el contenido en sólidos totales en las rodajas recién congeladas de frutos hermafroditas, pero no es las de frutos hembras. De manera que como consecuencia de este efecto se igualan los valores en ambas muestras, Tabla 4 (anexo).

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

El contenido en sólidos totales en rodajas de frutos hermafroditas es estadísticamente significativo a partir del 3^{er} mes de almacenamiento, alcanzándose el mayor valor a los 12 meses de conservación (15,21%), Figura 31.

En las rodajas de frutos hembras no se producen diferencias significativas a lo largo de la conservación, siendo el contenido de sólidos totales significativamente menor a los 9 meses de almacenamiento que en los frutos control.

Entre los lotes se produjeron diferencias que resultaron se estadísticamente significativas a los 3 y 9 meses de conservación en estado congelado, Tabla 4 (anexo).

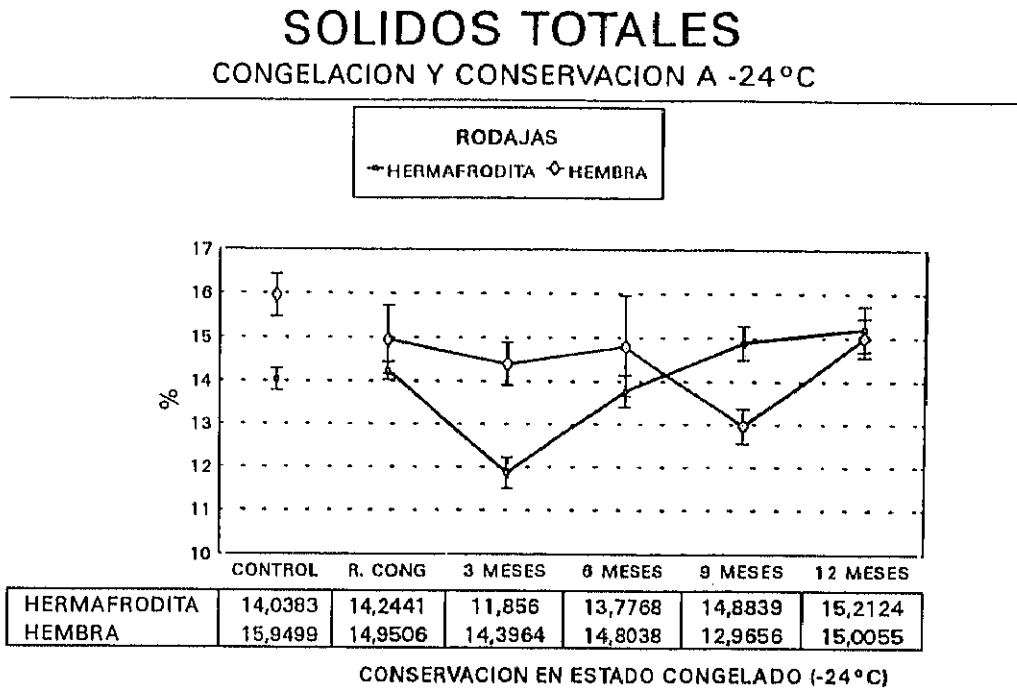


Figura 31: Evolución de los sólidos totales durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.2.3.1. DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

Durante la maduración de los frutos, el contenido en sólidos totales sufre un ligero aumento tanto en los frutos de papaya hermafrodita como hembra. Esto puede ser debido a una pérdida en el contenido en agua por la transpiración del fruto durante la maduración así como la utilización del agua como medio para que transcurran determinadas reacciones bioquímicas. Este comportamiento se observa en ambos frutos de papaya, manteniendo los frutos hembra los valores más elevados de sólidos totales durante la maduración (Cano y col., 1990b).

El proceso de congelación, provoca una disminución del contenido en

sólidos totales en las rodajas procedentes de frutos hembras, mientras que en las hermafroditas se produce un ligero aumento. Esto podría ser debido a que el proceso de congelación afectó más a las rodajas hembras en las que se formaron cristales mayores que al descongelar provocaron una mayor ruptura de los polisacáridos que constituyen gran parte de la sustancia seca del tejido. Sin embargo, el exudado determinado en estas muestras fue menor al determinado en las rodajas de papayas de frutos hermafroditas.

Durante la conservación al estado congelado, se produjeron pequeñas variaciones en el contenido en sólidos totales que pudieron ser debidas a la recristalización (fusión y cristalización sucesiva) de cristales de hielo en los que se pueden provocar roturas de moléculas de polisacáridos estructurales.

4.2.4. PECTINAS TOTALES.

El contenido en pectinas fue determinado durante la maduración de frutos de papaya y en rodajas de papaya procedentes de frutos hermafroditas y hembras sometidas al proceso de congelación y su posterior conservación en estado congelado, como se muestra en las Figuras 32 y 33.

*** Efecto de la maduración.**

Durante la maduración de los frutos hermafroditas se observa un aumento continuo en el contenido de pectinas totales que sólo fue estadísticamente significativo entre los frutos preclimáticos y los conservados a 14°C durante 10 días (16,67%) y entre los 5 y 10 días de conservación

(19,05%). Cuando el fruto alcanza la senescencia, 15 días de maduración, el contenido en pectinas totales disminuye ligeramente respecto al existente a los 10 días de maduración (7,14%), como se muestra en la Figura 32.

En los frutos hembras, las pectinas totales aumentan de manera muy significativa a los 5 días de conservación a 14°C (26,09%). A continuación el contenido en pectinas totales se mantiene hasta que disminuye a los 15 días de maduración de forma significativa (20%).

La diferencias en el contenido de pectinas totales de los frutos hermafroditas y hembras, no resultó ser estadísticamente significativa, salvo a los 5 días de maduración cuando el contenido era mayor en los frutos hembras (26,09%), Tabla 5 (anexo).

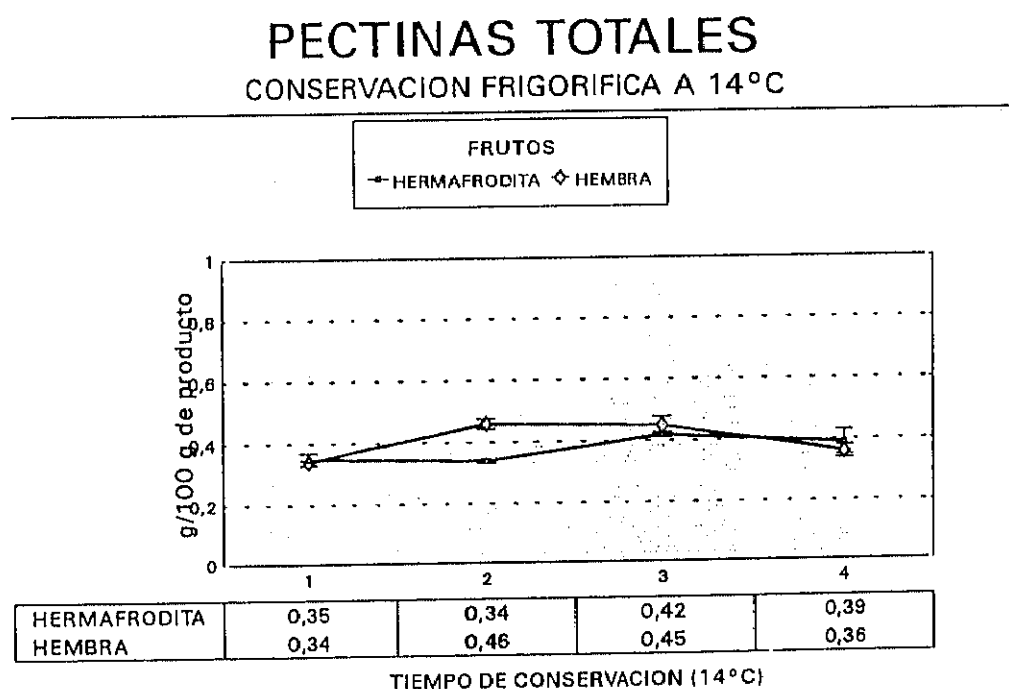


Figura 32: Evolución de las pectinas totales durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

El contenido de pectinas totales en las rodajas de papaya frescas, antes del procesado, fue estadísticamente diferente resultando mayor en las que provenían de frutos hembras que en las de frutos hermafroditas (0,34 y 0,66 g pectinas totales/100 g liofilizado), Tabla 6 (anexo).

Cuando las rodajas de papaya hermafrodita y hembra son sometidas al proceso de congelación, se produce una disminución no significativa en las primeras (5,88%) y extremadamente significativa en las segundas (39,40%).

Si se comparan los contenidos en pectinas totales de ambos tipos de rodajas se observa que existen diferencias significativas, Figura 33.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

A los tres meses de conservación a -24°C, se produce un aumento estadísticamente significativo en el contenido de pectinas totales respecto a las determinadas en las rodajas de papaya recién congeladas, tanto en las rodajas de papaya procedentes de frutos hermafroditas como de hembras. Este aumento resultó ser del 31,58% y 30,36%, respectivamente, Tabla 6 (anexo).

A partir del 6º mes de conservación, se produce en las muestras hermafroditas una disminución, no siendo el contenido de pectinas totales a los 12 meses de conservación a -24°C estadísticamente significativo (0,33 g pectinas totales/100 g liofilizado). En las rodajas de papaya hembra esta disminución se produce a partir del 3º mes de almacenamiento, siendo

estadísticamente significativo respecto al contenido en las muestras en fresco y en las recién congeladas (0,22 g pectinas totales/100 g de liofilizado), según puede apreciarse claramente en la Figura 33.

La evolución del contenido de pectinas totales en las rodajas de frutos hermafroditas y hembras es a lo largo de la conservación en estado congelado estadísticamente diferente permaneciendo siempre por encima en las hembras hasta que al 9º mes de almacenamiento se invierte.

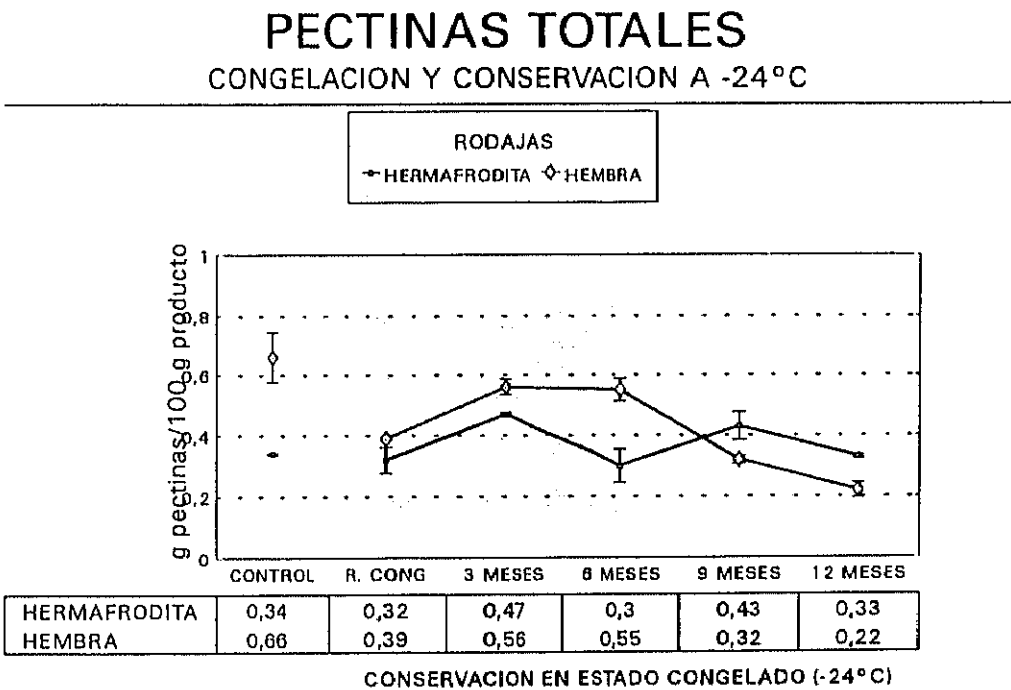


Figura 33: Evolución de las pectinas totales durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.2.4.1. DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

El grupo de polisacáridos conocido como pectinas o sustancias pécticas, es muy importante en el mantenimiento de la textura final de las frutas sometidas a procesos de congelación y su posterior conservación en estado congelado.

La pared celular está constituida por celulosas, hemicelulosas y pectinas, entre otras sustancias. La celulosa, tiene la función de conferir rigidez y resistencia a la ruptura, mientras que las sustancias pécticas y las hemicelulosas le confieren plasticidad y elasticidad. Las sustancias pécticas además contribuyen a la adhesión entre las células.

Las sustancias pécticas, son más solubles que otros polímeros de la pared celular y más reactivas químicamente. Las pectinas son largas cadenas de unidades de ácido galacturónico (α 1-4), cuyos grupos carboxilo están parcialmente esterificados con metanol (Braverman, 1963). Estos grupos metoxilo son fácilmente eliminados por la pectinmetilesterasa que origina geles característicos.

En el presente trabajo se han cuantificado las pectinas totales (de bajo y alto contenido de grupos metoxilos), para saber si el proceso de congelación y su posterior conservación en estado congelado afecta a su contenido, tanto en las rodajas de papaya hermafrodita como en las hembras.

Durante la maduración se observa una síntesis de pectinas tanto en los frutos hermafroditas como en los hembras. Esta síntesis se prolonga hasta los 10 días de conservación a 14°C en los frutos hermafroditas y sólo hasta los

5 en las hembras. Sin embargo cuando el fruto alcanza la senescencia, 15 días de maduración, se observa que en ambos frutos el contenido de pectinas disminuye, lo que podría ser debido a una mayor actividad de la enzima pectinmetilesterasa que se activa con la maduración de los frutos (Argaiz, 1994).

El proceso de congelación afecta de manera significativa a las rodajas de papaya hembra como se comentó en el apartado de resultados, quizás porque el contenido en pectinas en el producto fresco es muy superior al observado en las rodajas de papayas hermafroditas.

Durante la conservación en estado congelado de las rodajas de papaya procedentes de frutos hermafroditas, se observa que existe una correlación entre los datos de firmeza y los obtenidos en el contenido de pectinas, de manera que cuando aumenta la firmeza aumenta el contenido en pectinas totales y cuando disminuye la firmeza también lo hace el contenido en pectinas. Sin embargo los valores obtenidos en las rodajas hembras durante la conservación en estado congelado no siguen esta tendencia.

La no correlación entre la firmeza y el contenido en pectinas totales de las rodajas de papaya hembra podría ser debido a que el proceso de congelación provoca una ruptura de células con lo que se pondría en contacto la pectinmetilesterasa con las pectinas, obteniéndose una textura más gelificante, y afectando por tanto a la firmeza. Al ser menor el contenido en pectinas totales en las rodajas de papaya hermafrodita este efecto podría no ser tan significativo y no afectaría por tanto a este parámetro de la textura.

Las fluctuaciones que se observan en el contenido de pectinas totales a lo largo de la conservación en estado congelado podrían estar relacionadas con una mayor o menor extracción de las mismas, al producirse durante el almacenamiento sucesivas recristalizaciones, con lo que se solubilizarían dichos constituyentes, al favorecerse su hidrólisis y degradación.

4.2.5. ACIDEZ.

4.2.5.1. pH.

La evolución del pH en las diferentes muestras se observa en las Figuras 34 y 35.

*** Efecto de la maduración.**

Como se muestra en la Figura 34 la evolución observada en el pH de ambos frutos fue significativamente diferente a lo largo de todo el estudio de maduración. La papaya hermafrodita apenas sufre cambios en el pH, siendo sólo estadísticamente significativo el descenso que se produce de pH 5,5 en los frutos no maduros a pH 5,44 y 5,45 en los frutos conservados 5 y 15 días respectivamente. Por el contrario, en la papaya hembra, el pH oscila entre 5,41 al inicio del estudio, y 5,72 al final del mismo, existiendo diferencias estadísticamente significativas en este parámetro en los distintos grados de madurez, Tabla 3 (anexo).

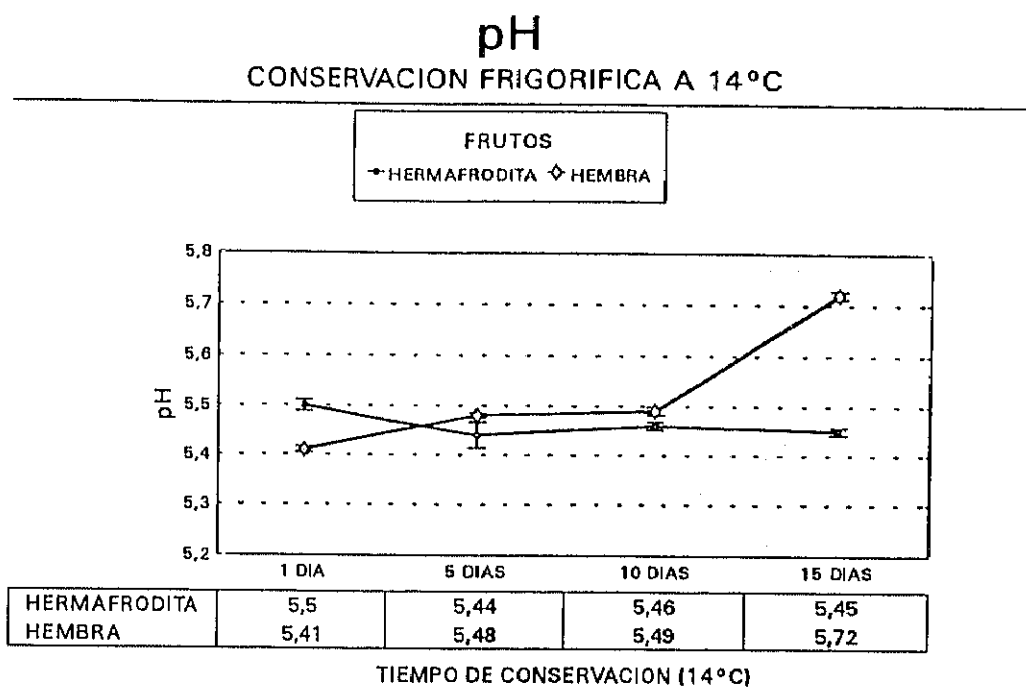


Figura 34: Evolución del pH durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación en estado congelado.

Los frutos de papaya destinados al proceso de congelación y conservación posterior, presentaron valores de pH estadísticamente diferentes (6,41 hermafroditas y 6,17 hembras), Tabla 4 (anexo).

El proceso de congelación provoca un descenso estadísticamente significativo en los valores de pH de las rodajas de papaya hermafrodita (12,80%) y hembra (11,51%). Las rodajas de papaya recién congeladas presentan valores de pH de 5,59 y 5,46 respectivamente, Figura 35.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

Durante la conservación en estado congelado se producen, tanto en las rodajas de papaya hermafrodita como hembra, diferencias significativas en el pH. En los frutos hermafroditas el pH de las rodajas de papaya recién congeladas difiere estadísticamente con los observados en muestras conservadas en estado congelado. Esta evolución también se observa en las rodajas de papaya hembra; mostrando valores de pH muy similares las rodajas de papaya recién congeladas y las almacenadas a -24°C durante 12 meses (pH 5,45), Figura 35.

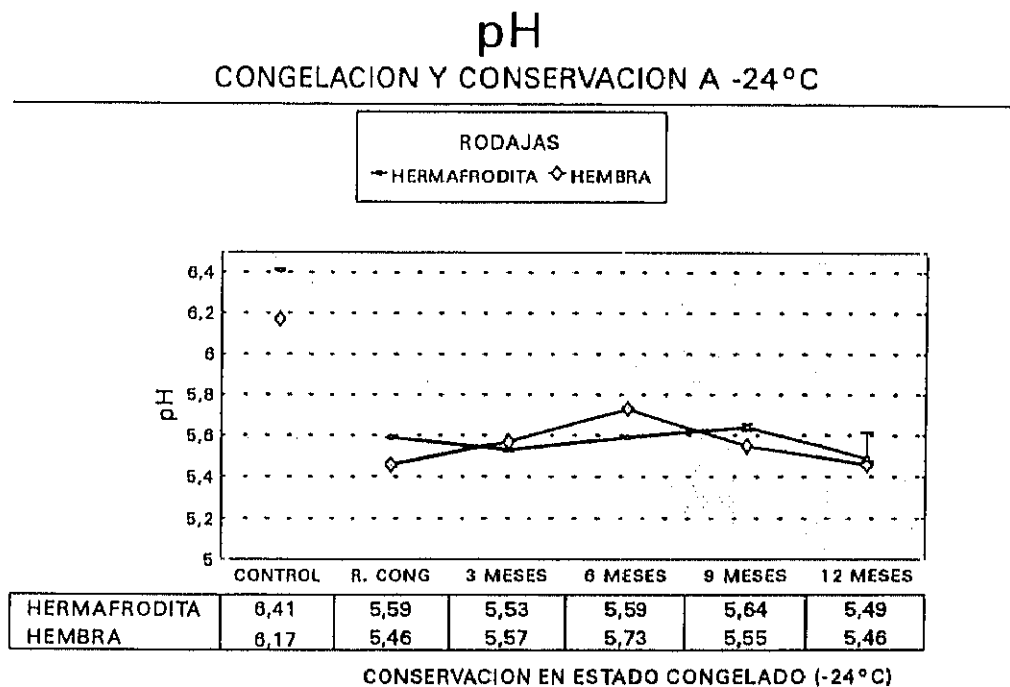


Figura 35: Evolución del pH durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.2.5.2. ACIDEZ TITULABLE.

Los resultados correspondientes a la acidez titulable de las diferentes

muestras de papaya se muestran en las Figuras 36 y 37.

* Efecto de la maduración.

La acidez titulable es estadísticamente diferente entre ambos frutos, salvo en la primera fase de la maduración, en que ambas presentan valores cercanos a 0,13 g de ácido cítrico/100 g de producto, como se observa en la Figura 36. Esta acidez no sufre modificación alguna durante la maduración del fruto hermafrodita, mientras que en el fruto hembra, disminuye ligeramente de manera continua hasta el final de la conservación. Estos valores sólo resultan significativamente diferentes entre los frutos preclimatéricos y los conservados a 14°C durante 15 días, Tabla 3 (anexo).

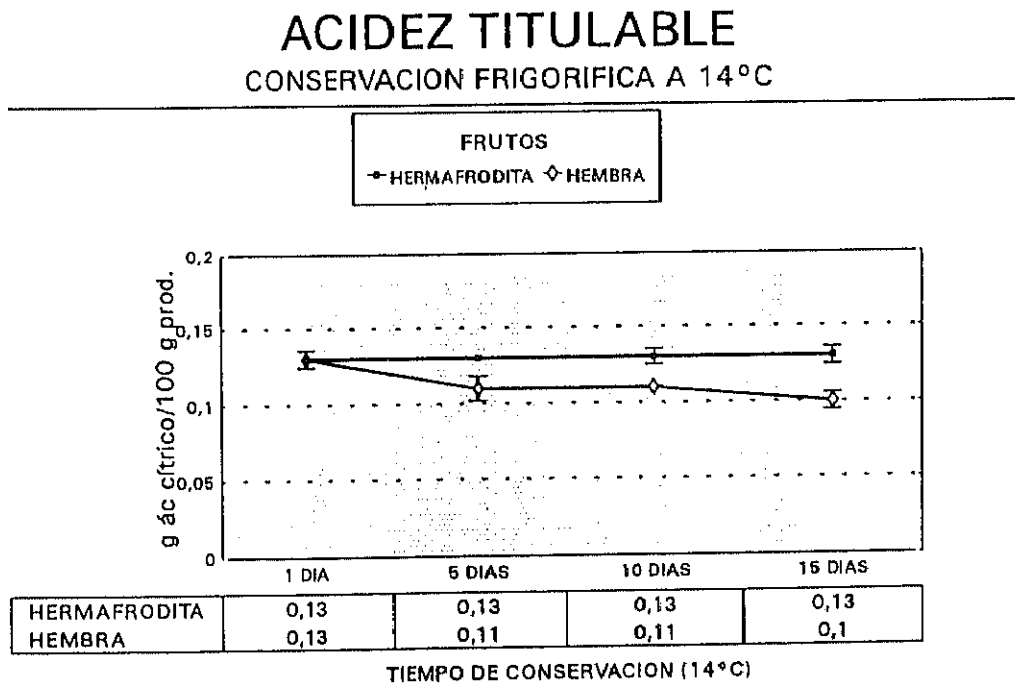


Figura 36: Evolución de la acidez titulable durante la conservación frigorífica (14°C).

*** Efecto del proceso de congelación.**

La acidez titulable en las rodajas procedentes de frutos de papaya hermafrodita y hembra antes de ser sometidas al procesado, no es estadísticamente diferente, presentando valores de 0,10 y 0,09 g de ác. cítrico/100 g de producto, respectivamente, Tabla 4 (anexo).

El proceso de congelación produce un aumento significativo de la acidez titulable de papayas hembras (18,18%), no ocurriendo este hecho en las hermafroditas. La acidez titulable de estos frutos no es estadísticamente significativa entre las rodajas recién congeladas de ambos frutos, Figura 37.

*** Evolución durante la conservación en estado congelado.**

La acidez titulable, sufre una disminución estadísticamente significativa en las rodajas de papaya hermafrodita a los 3 meses de conservación en estado congelado (27,27%). Sin embargo esta modificación de la acidez no es significativa si la comparamos con el correspondiente control (fruto fresco), Figura 37.

En los frutos hembras, existe un aumento significativo entre la acidez determinada en el control y a los 12 meses de conservación (10%). A lo largo de la conservación en estado congelado se producen fluctuaciones en la acidez titulable de las rodajas de frutos hermafroditas que son significativas entre el producto recién congelado y el almacenado 6 y 9 meses a -24°C.

También puede observarse que existen diferencias significativas entre

las muestras de ambos frutos a lo largo de la conservación en estado congelado, Tabla 4 (anexo).

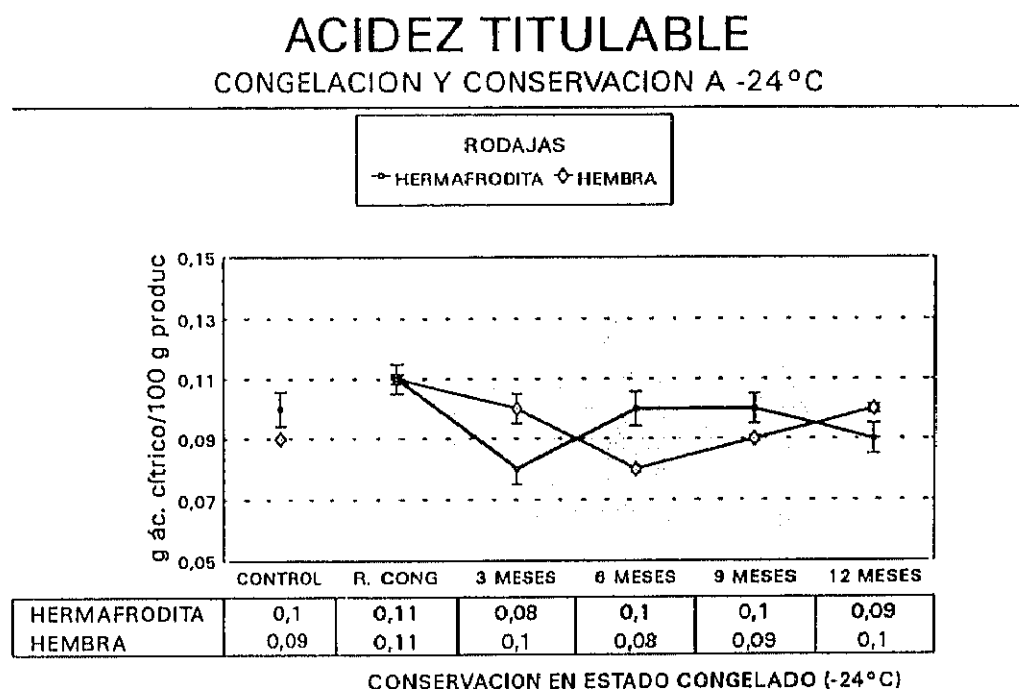


Figura 37: Evolución de la acidez titulable durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.2.5.3. ANALISIS DE LOS ACIDOS ORGANICOS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICACIA (CLAE).

La evolución en el contenido de los ácidos determinados, identificados y cuantificados por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (C.L.A.E.)

durante la maduración, el proceso de congelación de rodajas de papaya hermafrodita y hembras, y su posterior conservación en estado congelado se muestra en las Figuras 40 a 43.

El perfil cromatográfico de los ácidos orgánicos obtenido a partir de los extractos de papaya hermafrodita, resultó ser cualitativamente igual al de los hembras, Figura 38 (página 166).

El esquema seguido para la extracción, identificación y cuantificación de los ácidos orgánicos en ambos tipos de papayas se muestra en la Figura 39...

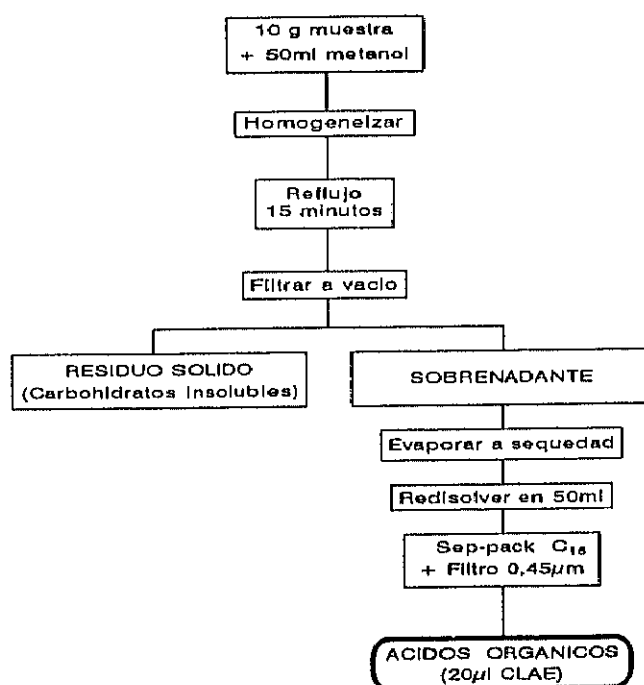


Figura 39: Organigrama de extracción, identificación y cuantificación de ácidos orgánicos.

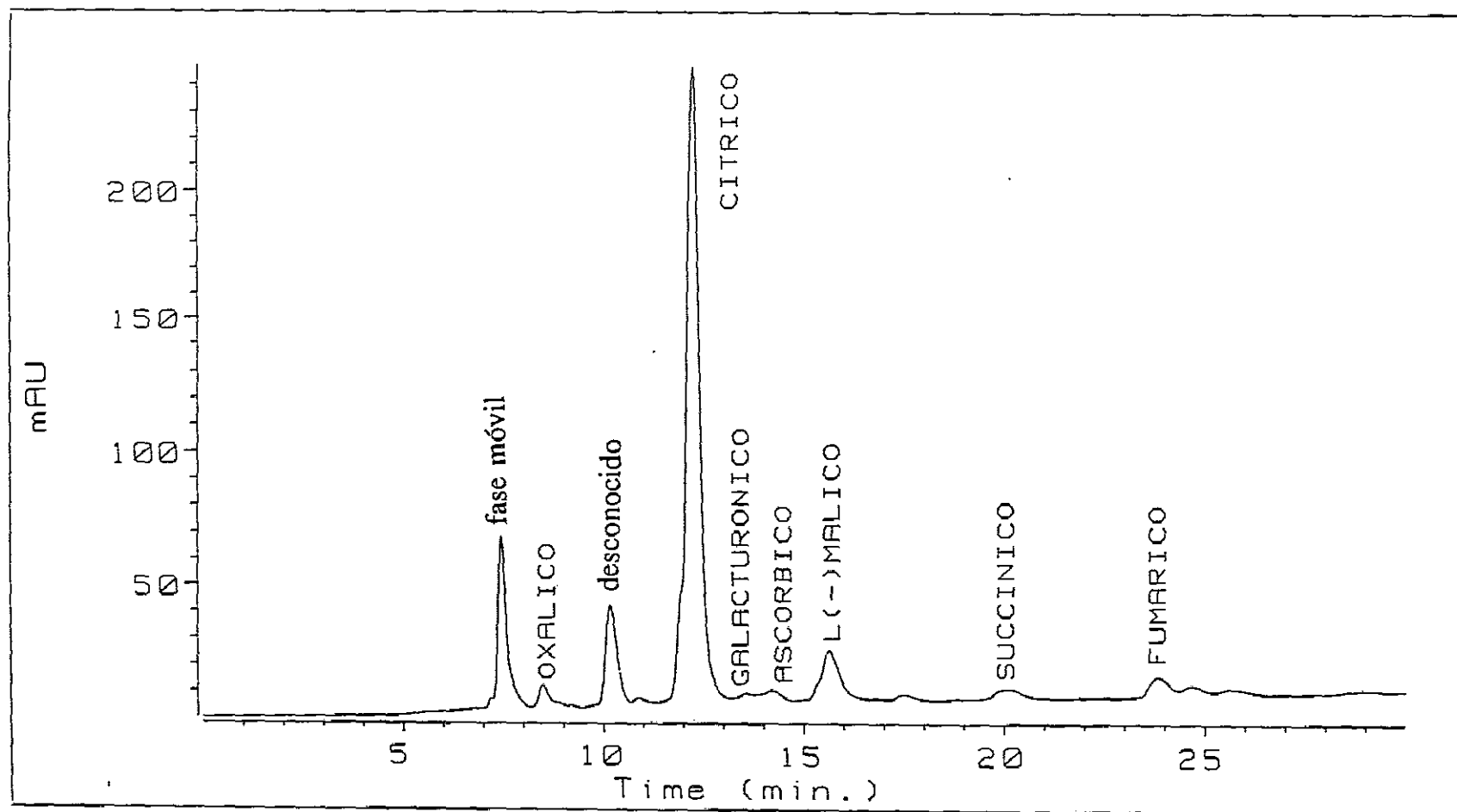


Figura 38: Perfil cromatográfico de los ácidos orgánicos identificados por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE).

** Ácidos orgánicos mayoritarios.*

La evolución del contenido de ácidos orgánicos mayoritarios (ác. cítrico, ác. galacturónico, ác. L(+) málico y ác. succínico), en las muestras analizadas, se muestra en las Figuras 40 y 41.

a) Ácido cítrico.

* Efecto de la maduración.

El contenido de ácido cítrico de los frutos de papaya hermafrodita disminuye de forma significativa durante la maduración (70,54%). Por el contrario, en los frutos hembras se observa un incremento durante la conservación a 14°C (54,91%), Figura 40 (página 168).

Excepto en los frutos preclimáticos, el contenido de ácido cítrico resultó ser superior en los frutos hembras que en los hermafroditas.

ACIDOS ORGANICOS MAYORITARIOS

CONSERVACION FRIGORIFICA 14°C

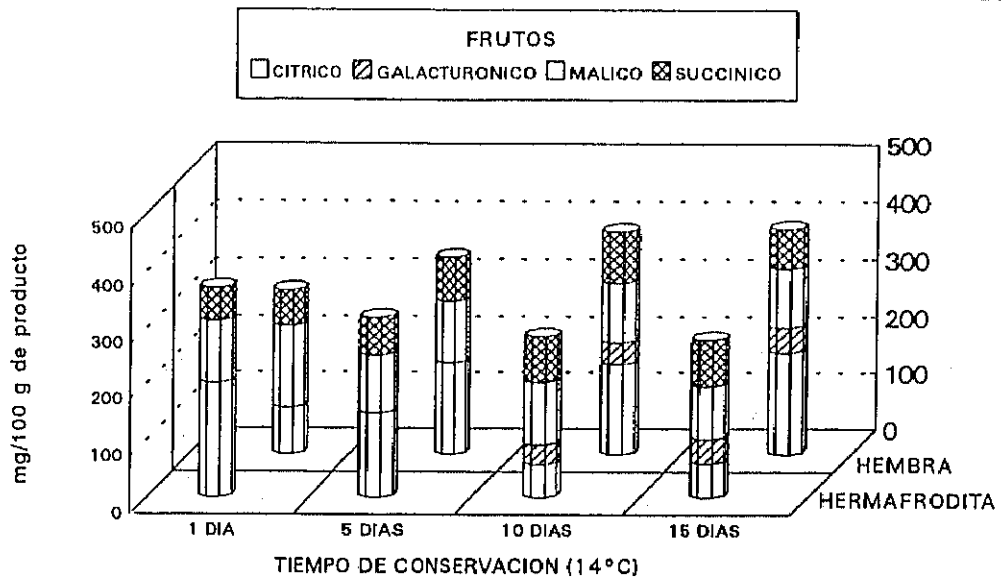


Figura 40: Evolución de los ácidos orgánicos mayoritarios durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

Las rodajas de papaya hermafrodita y hembra antes de ser sometidas al proceso de congelación, presentaban respectivamente 281,86 y 1017,50 mg de ácido cítrico/100 g producto. De forma que el contenido en ácido cítrico de estos dos frutos resultó ser estadísticamente muy diferente, según se muestra en la Figura 41 (página 170).

El proceso de congelación provoca una disminución estadísticamente significativa tanto en las rodajas de papaya hermafroditas como hembras (45,12% y 78,89%, respectivamente).

El contenido en ácido cítrico es estadísticamente diferente en las muestras recién congeladas de ambos frutos, alcanzando valores de 154,71 mg/100 g producto en las hermafroditas y 214,79 mg/100 g producto en las hembras, Tabla 8 (anexo).

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

El contenido de ácido cítrico en las rodajas de papaya hermafrodita, disminuye de forma significativa durante los 3 primeros meses de conservación en estado congelado (5,93%). A continuación se produce un aumento de este parámetro a los 6 meses de conservación. A partir de esta fecha, el contenido en ácido cítrico fluctúa hasta el final de la conservación. Las muestras almacenadas 12 meses contenían 203,62 mg/100 g producto, Tabla 8 (anexo).

En las rodajas de papaya hembra conservadas en estado congelado, se

observa una disminución del contenido de ácido cítrico estadísticamente significativa hasta el 6º mes de almacenamiento (24,66%). Posteriormente, se produce a los 9 meses de almacenamiento un aumento muy significativo (59,71%) respecto a las rodajas recién congeladas. El contenido de ácido cítrico a los 12 meses de conservación fue 194,04 mg/100 g producto, Tabla 8 (anexo).

El contenido en ácido cítrico durante el almacenamiento a -24°C, fue significativamente diferente en las muestras de papaya hermafrodita y hembras conservadas en estado congelado, Figura 41 (página 170).

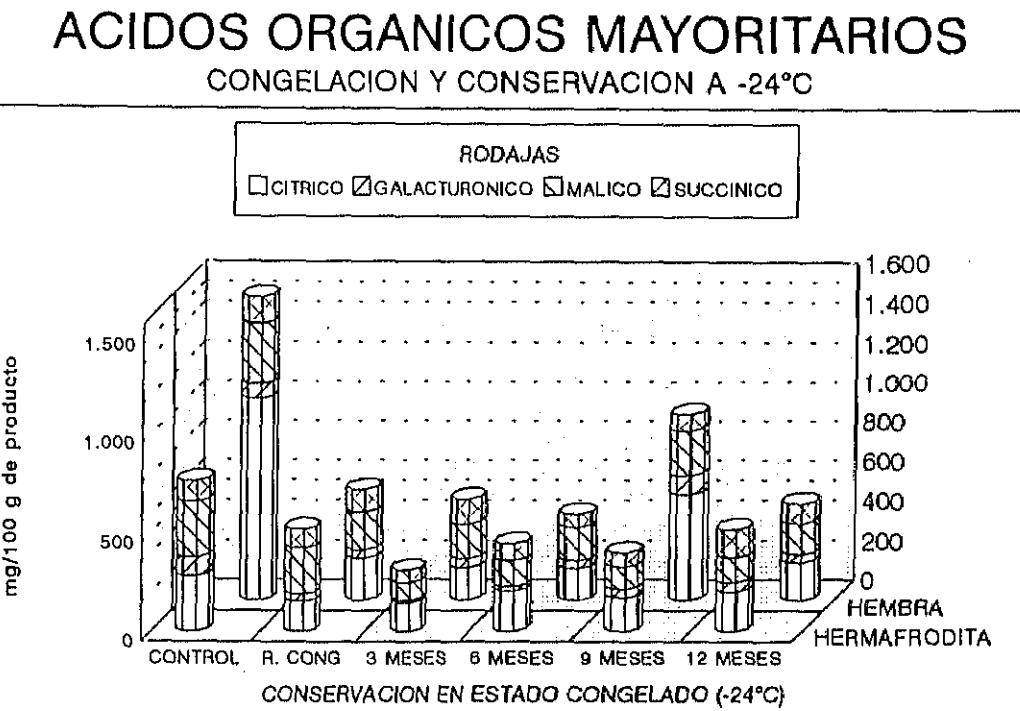


Figura 41: Evolución de los ácidos orgánicos mayoritarios durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

b) Acido galacturónico.

* Efecto de la maduración.

Tanto en los frutos hermafroditas como en los hembras, el contenido en ácido galacturónico aumenta con la maduración. De manera que aunque en los frutos preclimatéricos y en los conservados durante 5 días, no fue posible cuantificar su contenido, en los frutos senescentes alcanzó un valor de 41,90 y 45,15 mg/100 g de producto, respectivamente, Tabla 7 (anexo).

El contenido de ácido galacturónico no resultó ser estadísticamente diferente en los frutos de papaya hermafrodita y hembra, Figura 40 (página 168).

* Efecto del proceso de congelación.

El contenido en ácido galacturónico fue superior en las rodajas de papaya hermafrodita que hembras, antes de ser sometidas al proceso de congelación (96,30 y 75,15 mg/100 g producto, respectivamente), Tabla 8 (anexo).

El proceso de congelación produce, como se observa en la Figura 41 (página 170), una disminución estadísticamente significativa del contenido de ácido galacturónico tanto en las rodajas de papaya hermafrodita (61,27%) como en las hembras (43,77%).

Este parámetro es estadísticamente diferente si comparamos ambos frutos entre sí.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

En las muestras de papaya hermafrodita conservadas en estado congelado se produce una disminución muy significativa en el contenido de ácido galacturónico (58,02%). A partir del 6º mes de almacenamiento se produce un aumento de este parámetro (21,50%).

En las rodajas de papaya de frutos hembra, no se producen diferencias estadísticamente significativas hasta el 9º mes de conservación a -24°C, que aumenta de forma muy significativa (56,03%). Sin embargo, el contenido en ácido galacturónico a los 12 meses de almacenamiento resultó ser 41,51 mg/100 g producto, Figura 41 (página 170).

Asimismo, existen diferencias significativas en el contenido de ácido galacturónico en las muestras de frutos hermafroditas y hembras.

c) Acido L(+) málico.

* Efecto de la maduración.

Tanto en los frutos hermafroditas como en los hembras, se produce una disminución en el contenido de ácido málico durante la conservación frigorífica a 14°C, (16,14% y 29,48%, respectivamente), Figura 40 (página 168).

El contenido en ácido málico sólo resultó ser estadísticamente diferente en frutos de papaya hermafrodita y hembra en estado preclimatérico, Tabla 7 (anexo).

* Efecto del proceso de congelación.

El contenido de ácido málico en las rodajas de papaya de frutos

hermafroditas y hembras fue significativamente diferente (304,73 y 278,01 mg/100 g producto, respectivamente), Tabla 8 (anexo).

El proceso de congelación produce una disminución estadísticamente significativa tanto en las muestras hermafroditas y hembras recién congeladas (15,92 % y 38,23 %).

Este parámetro es significativamente mayor en rodajas de papaya procedente de frutos hermafrodita que en las de frutos hembra (233,74 y 188,23 mg/100 g producto, respectivamente), Figura 41 (página 170).

* Evolución de la conservación en estado congelado.

En las rodajas de papaya hermafrodita conservadas en estado congelado se produce una disminución estadísticamente muy significativa del ácido málico (62,33%) a los 3 meses de almacenamiento. Posteriormente, este parámetro aumenta alcanzando un valor de 128,12 mg/100 g producto, Tabla 8 (anexo).

El contenido en ácido málico en las rodajas de papaya de frutos

hembras disminuye de forma significativa hasta los 6 meses de conservación a -24°C (11,85%). A los 9 meses de conservación se produce un incremento muy significativo (16,25%). El contenido de ácido málico al final de la conservación (12 meses) no es significativamente diferente al que se determinó a los 6 meses de almacenamiento (153,24 mg/100 g producto), como muestra la Figura 41 (página 170).

La evolución en el contenido de ácido málico fue estadísticamente diferente en ambos frutos.

d) Acido succínico.

* Efecto de la maduración.

El contenido de ácido succínico aumenta significativamente en los frutos hermafroditas, a partir de los 5 días de conservación a 14°C , alcanzando un valor de 83,71 mg/100 g de producto cuando el fruto está sobremaduro, Tabla 7 (anexo).

En los frutos hembras, el contenido de éste ácido aumenta hasta los 10

días de maduración (29,46%), disminuyendo en un 23,17% cuando los frutos alcanzan la senescencia, Figura 40 (página 168).

El contenido de ácido succínico no resultó ser estadísticamente significativo en frutos de papaya hermafroditas y hembras, salvo cuando alcanzan la senescencia (15 días de conservación a 14°C), Tabla 7 (anexo).

* Efecto del proceso de congelación.

El contenido de ácido succínico determinado en las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, antes del proceso de congelación, no fue estadísticamente diferente, como puede apreciarse en la Figura 41 (página 170).

El proceso de congelación, no produce cambios significativos en el contenido de ácido succínico en las rodajas de papaya procedentes tanto de frutos hermafroditas como hembras. El contenido en ácido succínico fue 94,35 y 113,19 mg/100 g de producto, respectivamente, no existiendo diferencias significativas entre las rodajas recién congeladas de ambos frutos.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

En las rodajas de papaya hermafrodita conservadas en estado congelado, se observa que el contenido de ácido succínico fluctúa durante el almacenamiento en estado congelado, Figura 41 (página 170).

El contenido de ácido succínico en las rodajas de papaya hembra conservadas a -24°C , disminuye de forma continua durante la conservación a -24°C , Figura 41 (página 170).

El contenido de ácido succínico fue significativamente diferente a lo largo de la conservación en estado congelado, siendo siempre mayor en las rodajas de papaya conservadas en estado congelado procedentes de frutos hembras.

* *Acidos orgánicos minoritarios.*

La evolución del contenido de ácidos orgánicos minoritarios (ác. oxálico y ác. fumárico) de todas las muestras analizadas, se muestra en las Figuras 42 y 43.

a) Acido oxálico.

* Efecto de la maduración.

En los frutos de papaya hermafrodita, se observa que el contenido de ácido oxálico aumenta de manera significativa hasta los 5 días de conservación frigorífica (1,61 mg/100 de producto), Tabla 7 (anexo). Sin embargo, tanto en el fruto maduro como en el senescente, no fue posible cuantificar el contenido en ácido oxálico.

En los frutos de papaya hembra, el contenido en ácido oxálico aumenta progresivamente a lo largo de la maduración. Este aumento resultó ser significativo cuando se compara el contenido de los frutos preclimatéricos y el de los conservados durante 5 días a 14°C con el de los frutos senescentes (37,28% y 43,37%, respectivamente), Figura 42 (página 179).

El contenido en ácido oxálico resultó ser siempre significativamente mayor en los frutos hembras que en los hermafroditas, salvo a los 5 días de conservación frigorífica a 14°C que fue no significativo ($p > 0,05$).

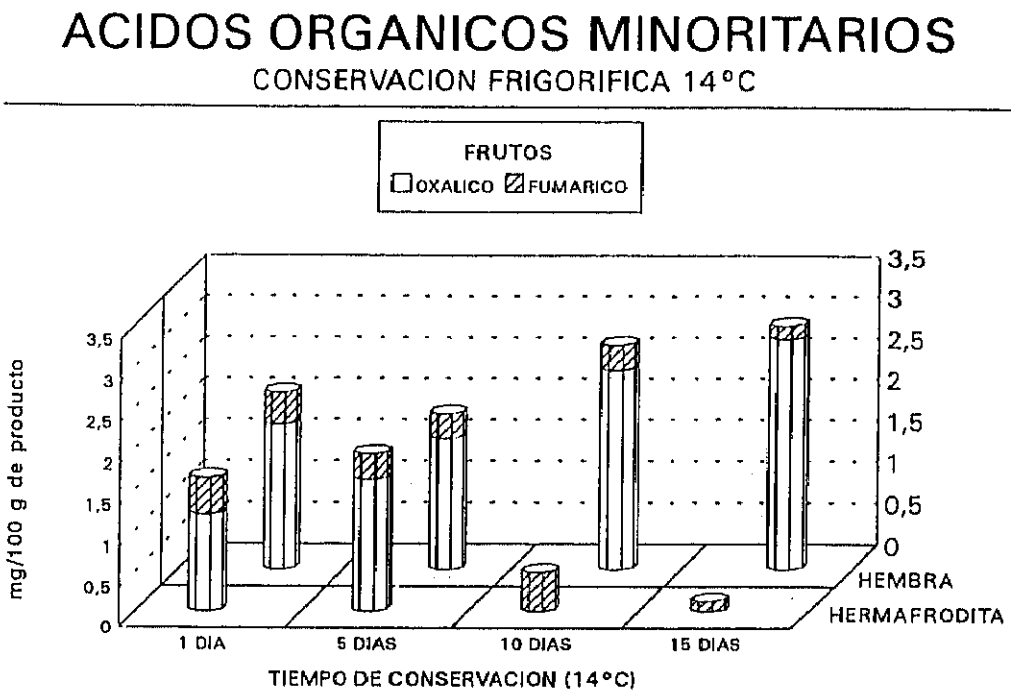


Figura 42: Evolución de los ácidos orgánicos minoritarios durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

El contenido de ácido oxálico determinado en las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, antes del proceso de congelación fue estadísticamente diferente, siendo superior en aquellas que procedían de frutos hembras. El contenido en ácido oxálico fue 3,05 mg/100 g producto en las muestras de frutos hermafroditas y 5,71 mg/100 g producto en las hembras, Tabla 8

(anexo).

El proceso de congelación provoca una disminución muy significativa en el contenido de ácido oxálico en las rodajas de papaya de frutos hermafroditas recién congeladas (69,18%).

Sin embargo, el contenido en ácido oxálico disminuye de manera no significativa en las rodajas de papaya hembra sometidas al proceso de congelación, según se muestra en la Figura 43 (página 182).

El contenido en ácido oxálico es significativamente mayor en las rodajas recién congeladas de papaya hembra que en la hermafrodita (5,38 y 0,94 mg/100 g de producto, respectivamente), Tabla 8 (anexo).

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

En las rodajas de papaya hermafrodita conservadas a -24°C se observó una disminución estadísticamente significativa de ácido oxálico, hasta el 6º mes de almacenamiento (39,36%). No obstante, a partir del 9º mes de

conservación en estado congelado se produce un incremento de dicho parámetro (70,44%). El contenido en ácido oxálico a los 9 y 12 meses de conservación fue 3,18 y 2,96 mg/100 g producto, valores semejantes a los observados en las rodajas de papaya en estado fresco.

En las muestras hembras, se observó una disminución estadísticamente significativa de ácido oxálico al 3^{er} mes de conservación en estado congelado (59,74%). A continuación, se produce un aumento significativo a los 9 meses de conservación (21,77%). A los 12 meses de conservación el contenido en ácido oxálico no fue estadísticamente diferente al determinado en las rodajas de frutos de papaya hembra control (4,56 mg/100 g producto), Tabla 8 (anexo).

El contenido en ácido oxálico es estadísticamente diferente a lo largo de la conservación de rodajas de papaya hermafrodita y hembra en estado congelado, siendo siempre mayor el contenido en aquellas que procedían de frutos de papaya hembra.

ACIDOS ORGANICOS MINORITARIOS

CONGELACION Y CONSERVACION A -24°C

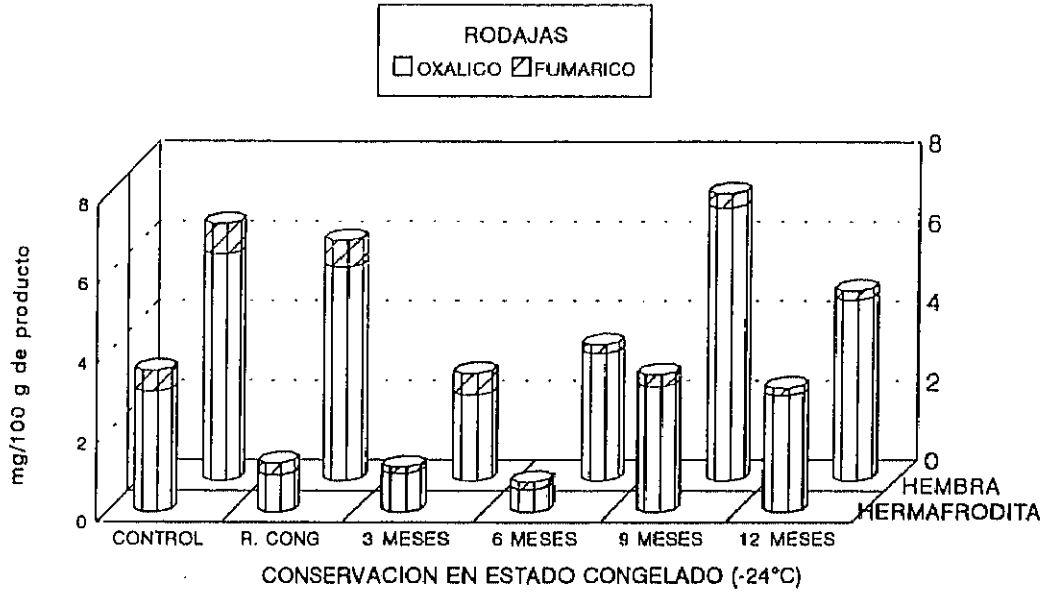


Figura 43: Evolución de los ácidos orgánicos minoritarios durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

b) Acido fumárico.

* Efecto de la maduración.

El contenido de ácido fumárico fluctúa durante la maduración tanto de frutos hermafroditas como hembras, Figura 42 (página 179).

El contenido de este ácido resultó ser ligeramente superior en frutos de

papaya hermafroditas que en hembras.

* Efecto del proceso de congelación.

Las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, antes de ser sometidas al proceso de congelación, presentan un contenido en ácido fumárico estadísticamente diferente (0,52 y 0,77 mg/100 g producto, respectivamente).

El proceso de congelación produce una disminución del contenido de ác. fumárico no significativa en las rodajas recién congeladas de frutos de papayas hermafroditas y hembras, según muestra la Figura 43 (página 182).

Sin embargo, existe una diferencia significativa en el contenido de ácido fumárico determinado en las rodajas recién congeladas de ambos frutos.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

El contenido en ácido fumárico se mantiene sin sufrir variaciones estadísticamente significativas a lo largo de la conservación, en estado congelado.

En las rodajas de papaya hembra conservadas en estado congelado, se produce una disminución estadísticamente significativa en el contenido de ácido fumárico a partir de los 3 meses de conservación (64,70%).

La evolución en el contenido de ácido fumárico fue estadísticamente diferente a lo largo de la conservación en estado congelado salvo 6 meses de almacenamiento en el que no se observaron diferencias significativas entre las rodajas de frutos hermafroditas y hembras. El contenido en este ácido fue mayor en todo momento en las muestras hembras, Tabla 8 (anexo).

c) Acido quínico.

En algunas muestras fue posible detectar pequeñas cantidades de ácido quínico, pero en concentraciones tan bajas que no quedan reflejadas en el presente trabajo de investigación.

4.2.5.4. DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

Durante la maduración de los frutos de papaya se observó un ligero

aumento del pH y una disminución de la acidez titulable a diferencia de lo expuesto por deArriola y col. (1975). Estos autores determinaron que durante la maduración de frutos de papaya se producía una disminución del pH y un ligero aumento de la acidez titulable. En el presente estudio el incremento de pH fue más patente en los frutos hembras que en los hermafroditas. Los ácidos orgánicos son para la respiración celular una importante fuente de energía. Mientras que el contenido en la mayoría de los ácidos orgánicos disminuye en los frutos hermafroditas, lo que coincide con lo expuesto por Hulme (1970), en los frutos hembras se produce un aumento de los mismos. Este hecho fue igualmente observado en otros frutos como plátano (Palmer, 1971) y chirimoya (Alique y Oliveira, 1994).

El proceso de congelación provoca tanto en las rodajas de papaya hermafrodita como hembra, un aumento de la acidez que se ve reflejado tanto en una disminución del pH como en un aumento en los valores de acidez titulable.

La mayoría de los estudios referentes a la congelación de productos hortofrutícolas, coinciden con los resultados anteriormente expuestos. La gran disminución del pH de las muestras tras la congelación se debe, según Van der Berg (1968), a la precipitación de fosfatos alcalinos de calcio, magnesio y

sodio. Como se expuso en la introducción de este trabajo, durante la congelación de los tejidos vegetales se produce una concentración de solutos en la fase acuosa no congelada del citoplasma celular, superándose las constantes de solubilidad de muchos productos con lo que comienzan a precipitar algunas sales. Este hecho, junto con la mayor facilidad de extracción de los ácidos orgánicos tras la congelación, por ruptura de las membranas celulares, explicaría el aumento observado en la acidez titulable en las rodajas de papaya.

Los ácidos más comunes y abundantes tanto en las rodajas hermafroditas como hembras son el cítrico y el málico, lo que coincide con lo expuesto por Ulrich, (1970) y Cano y col., (1991).

El proceso de congelación provoca tanto en las rodajas de papaya hermafrodita como hembra, una disminución significativa en el contenido de los ácidos oxálico, cítrico, galacturónico, málico y fumárico. Esta disminución no fue estadísticamente significativa en el contenido de ácido succínico. La disminución en el contenido de ácidos orgánicos podría ser debida a la precipitación de los mismos ya que al congelar el producto se produce una concentración de los solutos en el citoplasma celular.

Durante la conservación en estado congelado de las rodajas de papaya hermafrodita y hembra se produce un ligero aumento del pH, mientras que la acidez titulable apenas varía. Además se producen fluctuaciones en el contenido de los distintos ácidos, que podrían estar relacionadas con sucesivas recristalizaciones de los cristales de hielo, quedando solubilizados los ácidos más solubles, y posteriores cristalizaciones debidas a pequeñas fluctuaciones en la temperatura de almacenamiento.

La recuperación de los valores de pH aparece reflejada en numerosos estudios y fue explicada por Van der Berg (1968) como una precipitación de fosfatos ácidos de potasio y citratos de sodio y potasio. Esta segunda precipitación se produciría de una manera más lenta, y por ello sus efectos no se observan inmediatamente después de la congelación. Además el ácido cítrico es uno de los ácidos orgánicos cuya concentración disminuye a lo largo de la conservación y de acuerdo a la teoría de Van der Berg (1968), se debería a la precipitación de sales cítricas.

4.2.6. CAROTENOIDES.

La separación, identificación y cuantificación de los compuestos

carotenoides se llevó a cabo por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE), empleando un detector UV/Visible de diodos.

La determinación de los compuestos carotenoides se realizó en frutos preclimatéricos (1 día de conservación a 14°C), frutos maduros (10 días) y en frutos senescentes o sobremaduros (15 días). Esta selección se realizó al considerar la posible relación entre los cambios en el contenido de carotenos y las modificaciones en el color de la piel/pulpa de los frutos. Los frutos preclimatéricos tenían una piel de color verde oscuro, los maduros de color entre amarillo y naranja, y los senescentes totalmente naranja.

También se llevó a cabo el estudio de los cambios que podrían producirse en la composición de carotenos en muestras de papaya hermafrodita y hembra sometidas a un proceso de congelación y su posterior conservación en estado congelado durante 3, 6, 9 y 12 meses.

La Figura 44 (página 189), muestra el cromatograma de los carotenoides por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE) en fase reversa obtenidos a partir de extractos no saponificados de papaya. El cromatograma de los compuestos carotenoides separados de los extractos saponificados se muestran en la Figura 45 (página 190).

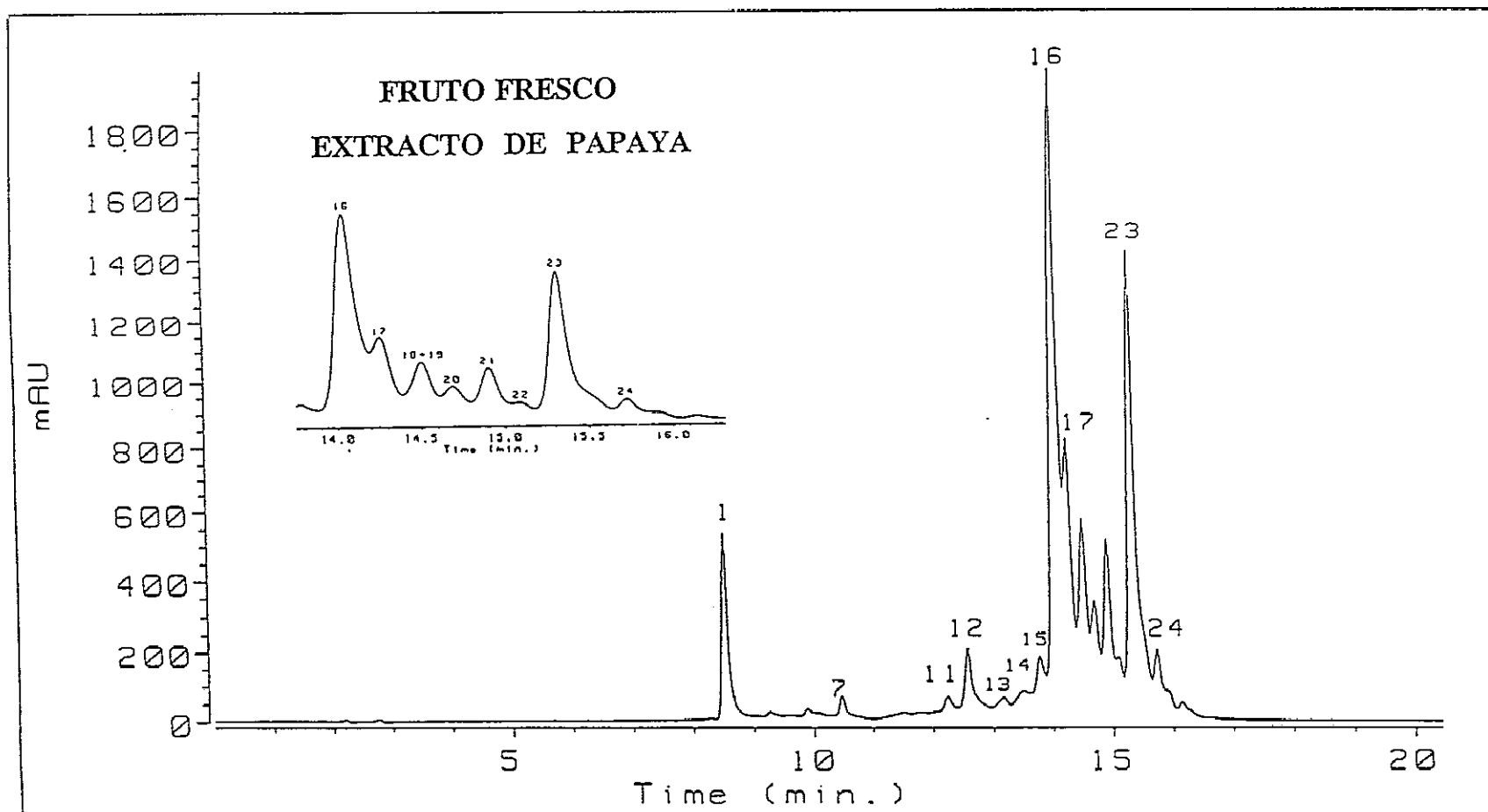


Figura 44: Cromatograma de los pigmentos carotenoides separados por CLAE en fase reversa a partir de los extractos **no saponificados** de papayas hembras y hermafroditas **maduras** y sin procesar. La identificación de los picos se encuentra en la Tabla VII.

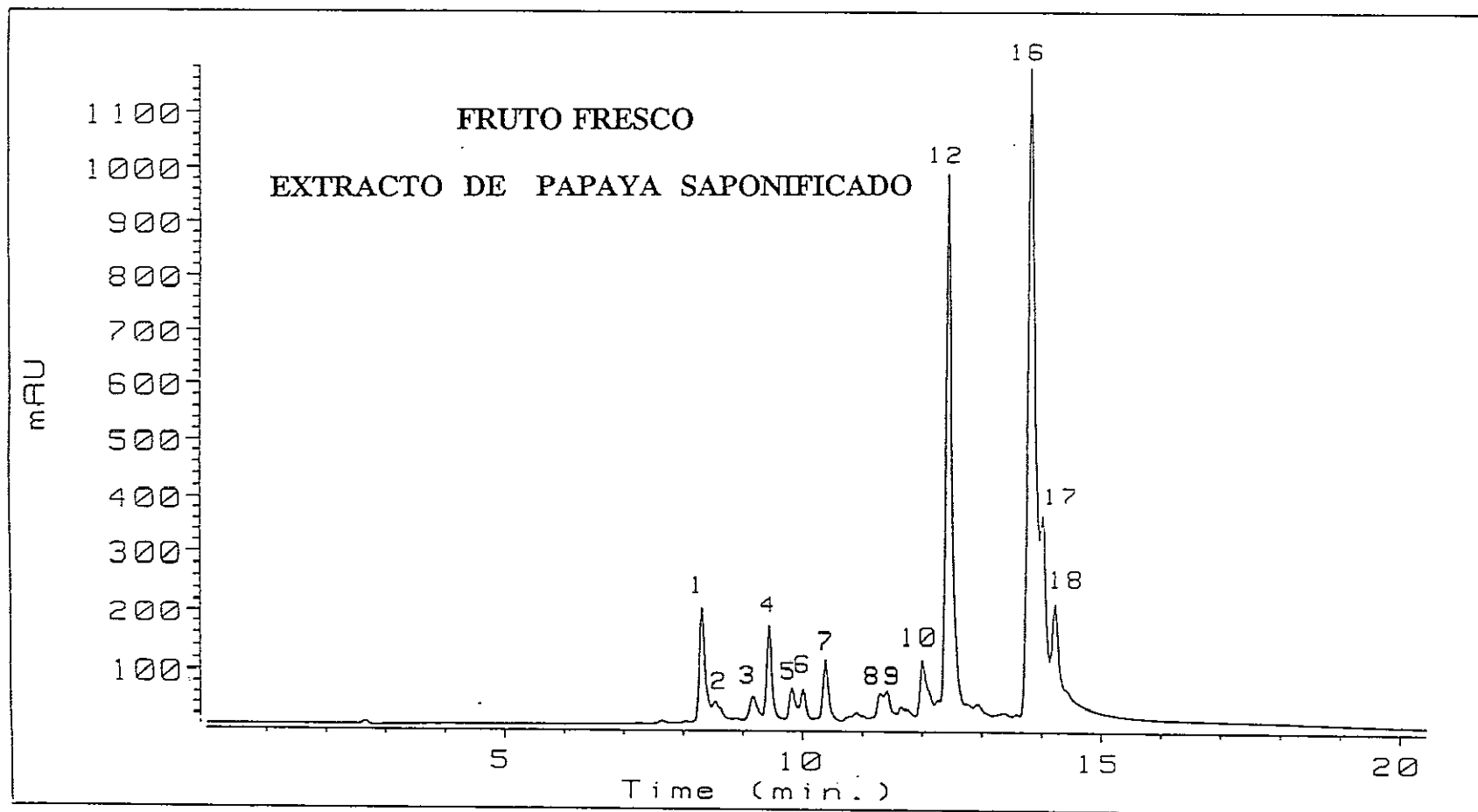


Figura 45: Cromatograma de los pigmentos carotenoides separados por CLAE en fase reversa a partir de los extractos **saponificados** de papayas hembras y hermafroditas **maduras** y **sin procesar**. La identificación de los picos se encuentra en la Tabla VII.

El perfil cromatográfico obtenido en los extractos de papaya hembra resultó ser cualitativamente igual al de las papayas hermafroditas.

La Tabla VII (página 192), muestra los picos correspondientes a todos los compuestos carotenoides separados de los extractos de papaya, en el orden de elución de una columna C_{18} en fase reversa (CLAE).

A partir de los extractos no saponificados, se separaron tres tipos de compuestos diferentes: Xantofilas (picos 7, 11 y 12), carotenoides hidrocarbonados (picos 16, 17 y 18) y ésteres de xantofilas (picos 13-15 y 19-24).

El licopeno (λ_{\max} 474 nm) (pico 16) fue el pigmento mayoritario en todos los extractos. Los cromatogramas de papaya hermafrodita y hembra presentaron, picos parcialmente resueltos de *trans*-licopeno (pico 16) y neolicopeno A, un isómero *cis* del licopeno (pico 17). La presencia de picos intensos que absorben en la región UV cercana (346 y 360 nm) así como un pequeño desplazamiento de 8 nm en la absorción máxima del *cis*-licopeno respecto a la del compuesto *trans*, está de acuerdo con la existencia de un único doble enlace *cis* en la posición central en la geometría del-neolicopeno A (pico 17), Figura 46 (página 193).

Pico	Tiempo de Retención (min.)	Pigmento	λ nm		
1	8.50	Sudan (P.I)	414	478	
2	8.52	violaxantina	420	442	472
3	9.23	9-cis-neoxantina	412	436	464
4	9.47	9-cis-violaxantina	414	438	464
5	9.85	trans-luteína	422	446	474
6	10.04	sin identificar	416	442	466
7	10.42	zeaxantina	422	450	474
8	11.23	licopeno-5,6-epóxido	428	452	480
9	11.45	β -criptoxantina-5',6'-epóxido ¹	422	446	472
10	11.99	β -criptoxantina-5,6-epóxido ¹	422	446	472
11	12.06	criptoflavina	404	428	452
12	12.48	β -criptoxantina	428	452	478
13	13.04	éster violaxantina	422	442	464
14	13.37	éster violaxantina	422	442	464
15	13.61	éster luteína	420	444	472
16	13.88	licopeno	446	474	504
17	14.07	neolicopeno A	346 360 440	466	494
18	14.22	β -caroteno	422	446	474
19	14.26	éster criptoxantina 5,6-epóxido ²	(428)	446	469
20	14.46	éster 9-cis ó 9'-cis criptoxantina	330 348 368 420	444	472
21	14.67	éster criptoxantina 5,6-epóxido	(428)	446	469
22	14.87	éster β -criptoxantina	428	450	478
23	15.10	éster β -criptoxantina	428	450	478
24	15.42	éster β -criptoxantina	428	450	478

¹ Posición del epóxido no determinada. ² β -caroteno no separado.

Tabla VII: Identificación de los picos de los carotenoides mayoritarios en extractos de papaya hermafrodita y hembra (*Carica papaya*, cv. Sunrise) separados por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE).

ESPECTROS DE UV/VISIBLE DE CAROTENOIDES HIDROCARBONADOS

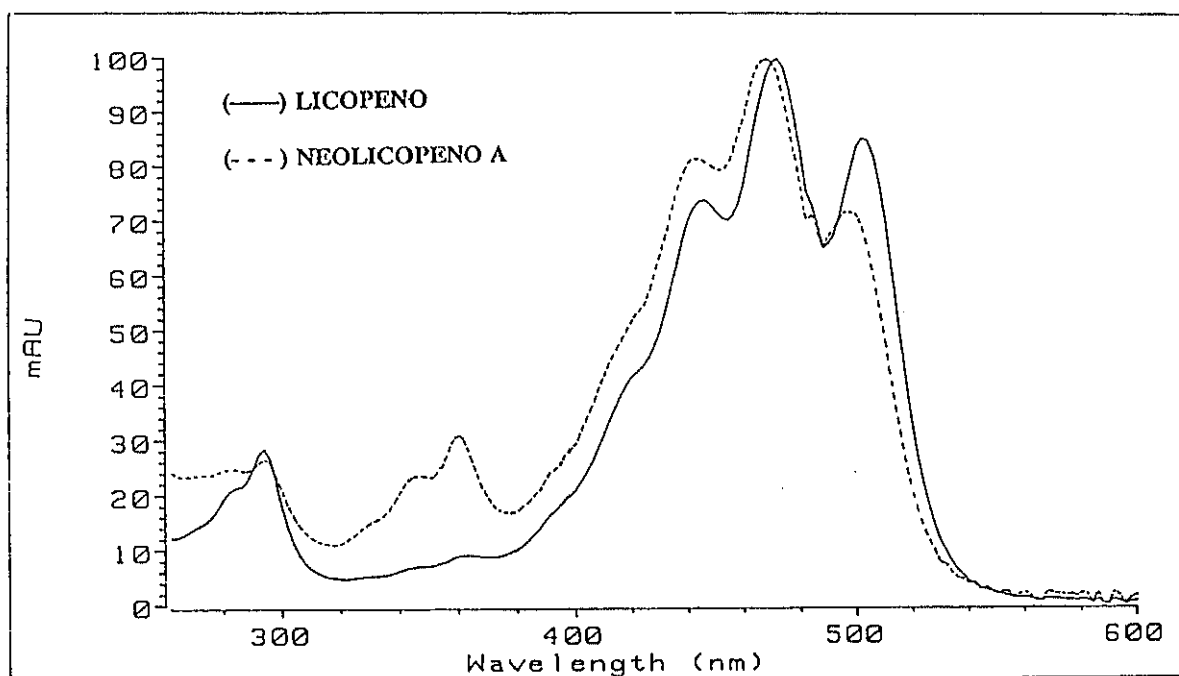


Figura 46: Espectros de UV/visible del Licopeno (—) (λ_{\max} 446, 474 y 504 nm) (pico 16) y del Neolycopeno A (---) (λ_{\max} 440, 466 y 494 nm, picos *cis* 346 y 360 nm) (pico 17) medidos en el disolvente empleado en la separación por CLAE.

Hay que destacar que la mayoría de los ésteres de xantofilas analizados como pigmentos mayoritarios del fruto de la papaya, provienen de la esterificación de los hidroxicarotenoides (xantofilas) con ácidos grasos de cadena larga, tales como cáprico, láurico, mirístico y palmítico (Philip y Chen, 1988a,b).

En el cromatograma de los extractos de papaya no saponificados (Figura 47a, página 196), no fue posible separar ni detectar el β -caroteno, ya que después del analizar la pureza de los picos que eluyen entre 14,07 y 15,42 min (picos 18+19-23), se observó que todos ellos presentaban entre un 98-100% de pureza. Una vez realizada la saponificación, la presencia del β -caroteno se detectó en el pico 18, siendo ésta inferior al 1%, Figura 47b, (página 196).

Para confirmar que el pico 18 estaba constituido en parte por β -caroteno, se adicionó β -caroteno comercial al extracto saponificado de papaya, observándose en el cromatograma (Figura 47c, página 196) el aumento proporcional del pico 18. Teniendo en cuenta estos resultados, el contenido en β -caroteno del extracto de papaya sin saponificar es prácticamente imposible

de cuantificar por lo que se ha considerado que en la cuantificación del pico 18+19 estaba incluida la escasa presencia del β -caroteno ($\leq 1\%$), ya que éste último presenta un tiempo de elución en CLAE, y en las condiciones empleadas en la separación, idéntico que el compuesto 19, identificado como un éster de la β -criptoxantina-5,6-epóxido.

Aunque el β -caroteno ha sido considerado siempre como el precursor de vitamina A por excelencia, el contenido de provitamina A en los frutos de papaya hembra y hermafrodita se debe al alto contenido en β -criptoxantina encontrado, tanto libre como esterificada con ácidos grasos, así como a los ésteres de β -criptoxantina-5,6-epóxido (Philip y Chen, 1988a,b).

Además, los estudios realizados en los últimos años, que relacionan la ingesta de productos ricos en carotenoides precursores de vitamina A con la inhibición del desarrollo de enfermedades cancerígenas, se ha observado que muchos de estos alimentos contenían bajas concentraciones de β -caroteno, siendo los compuestos hidroxicarotenoides (xantofilas) los pigmentos mayoritarios (Shekelle y col, 1981; Moon e Itri, 1984).

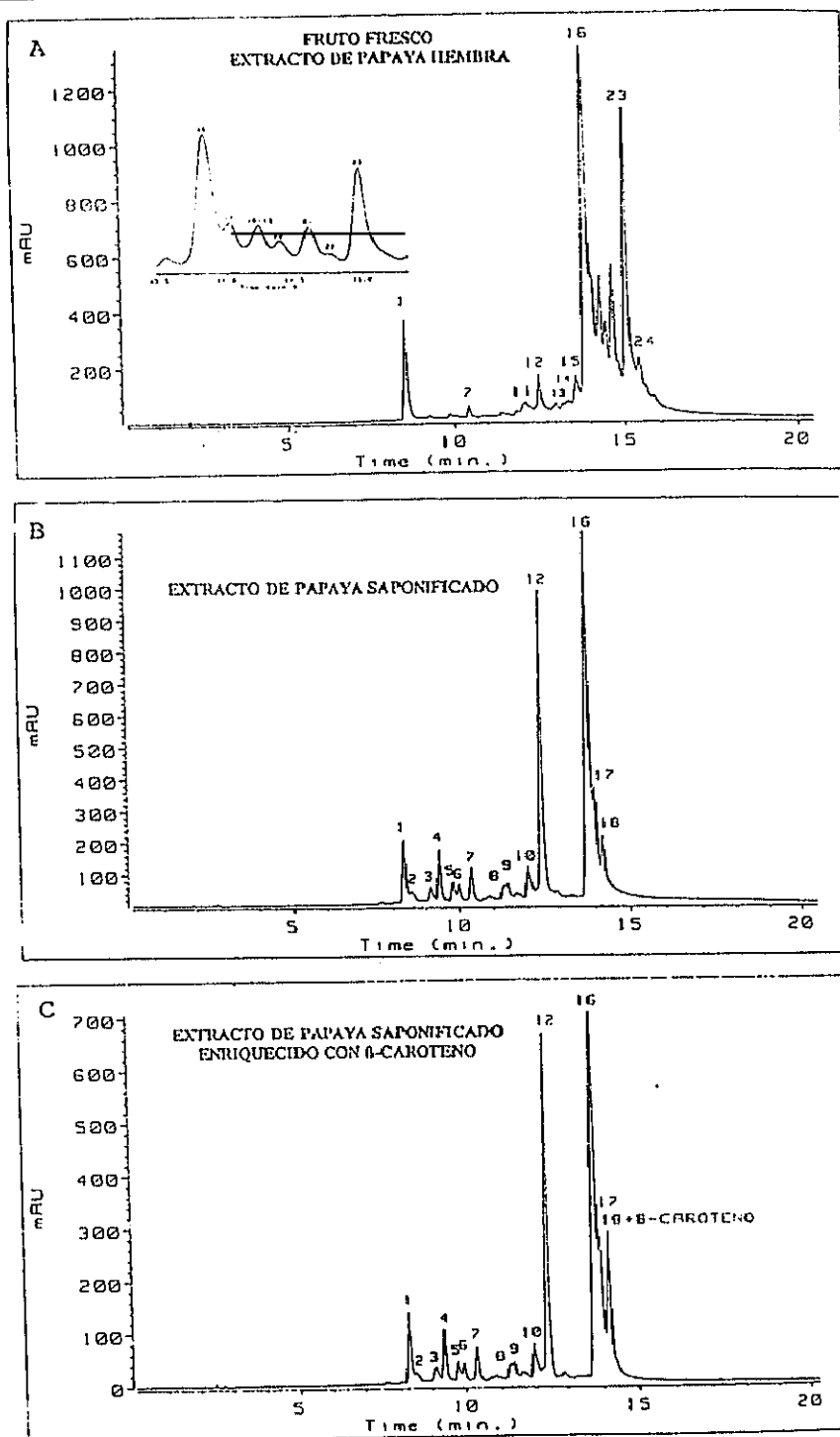


Figura 47: Cromatogramas de los compuestos carotenoides separados por CLAE en fase reversa a partir de los extractos de papaya madura antes (A) y después (B) de saponificar. El cromatograma (C) muestra el extracto saponificado enriquecido con β -caroteno.

Las xantofilas mayoritarias en los extractos de papaya fueron identificadas como *trans*-zeaxantina (λ_{max} 450 nm) (pico 17), criptoflavina (λ_{max} 428 nm) (pico 11) y β -criptoxantina (λ_{max} 450 nm) (pico 12) por la comparación de su absorción UV/Visible y sus tiempos de retención por CLAE con aquellos obtenidos para estos mismos compuestos comerciales, Figura 48 (página 198).

Los picos 19 y 21 (Tabla VII) fueron identificados como ésteres de la β -criptoxantina-5,6-epóxido, presentando su máxima absorción a 446nm, Figura 50. La estructura del éster de 9- ó 9'-*cis*-criptoxantina se asignó, de forma tentativa, al compuesto que eluye a 14,46 min (pico 20), en base a su espectro de UV/Visible con máximos de absorción a 420, 444 y 472 nm acompañados de máximos de absorción en la región UV cercano a 330, 348 y 368 nm característicos de compuestos con dobles enlaces *cis*, Figura 49 (página 199).

Los ésteres de la β -criptoxantina (λ_{max} 450 nm) fueron separados a 14,87 min (pico 22), 15,10 min (pico 13) y 15,42 min (pico 24). En menor proporción fueron separados ésteres de violaxantina y luteína (picos 13-15).

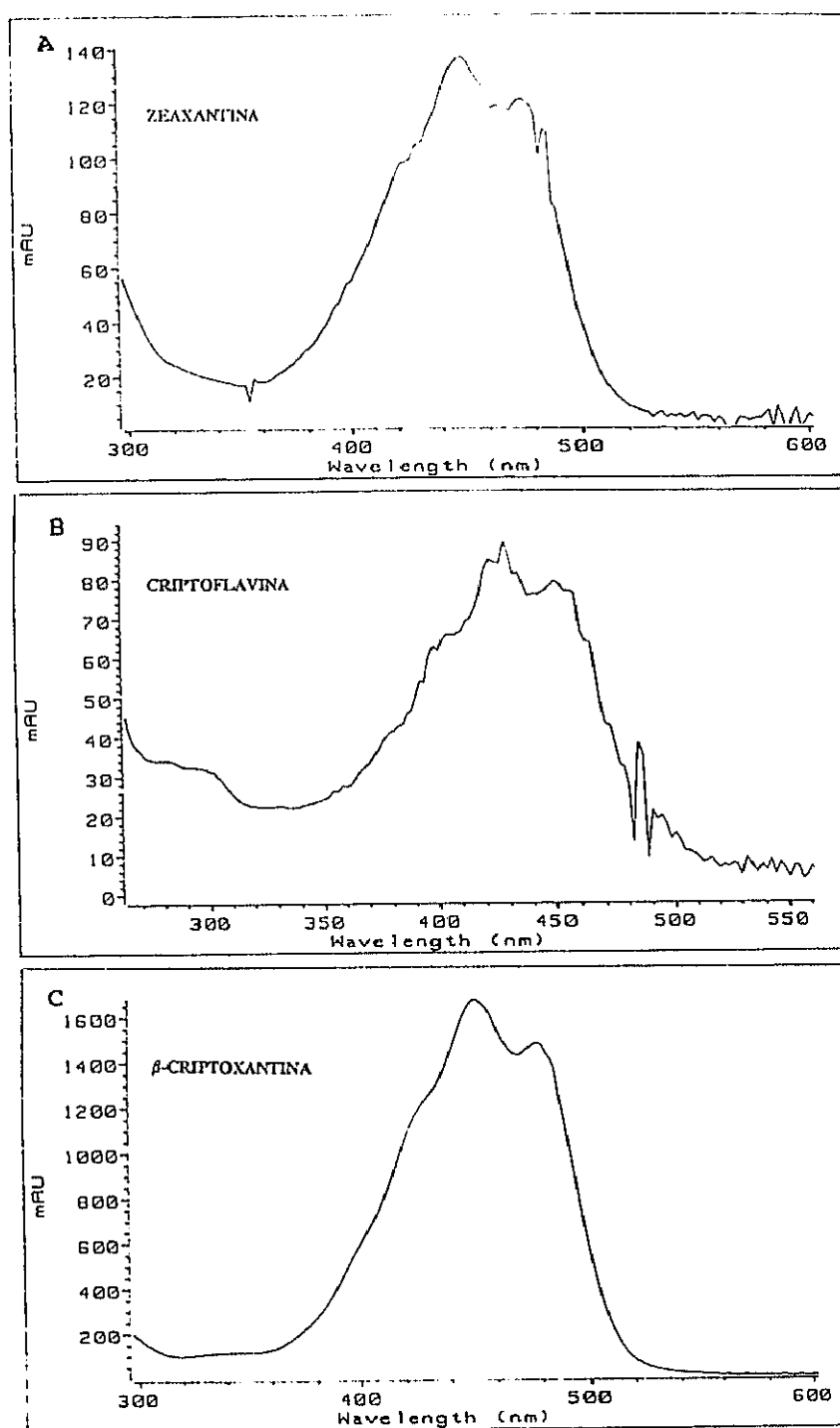


Figura 48: Espectros de UV/visible medidos en el disolvente empleado en la separación por CLAE de (A) Zeaxantina (pico 7) (λ_{\max} 422, 450 y 474 nm), (B) Criptoflavina (pico 11) (λ_{\max} 404, 428 y 452 nm) y (C) β -Criptoxantina (pico 12) (λ_{\max} 428, 452 y 478 nm).

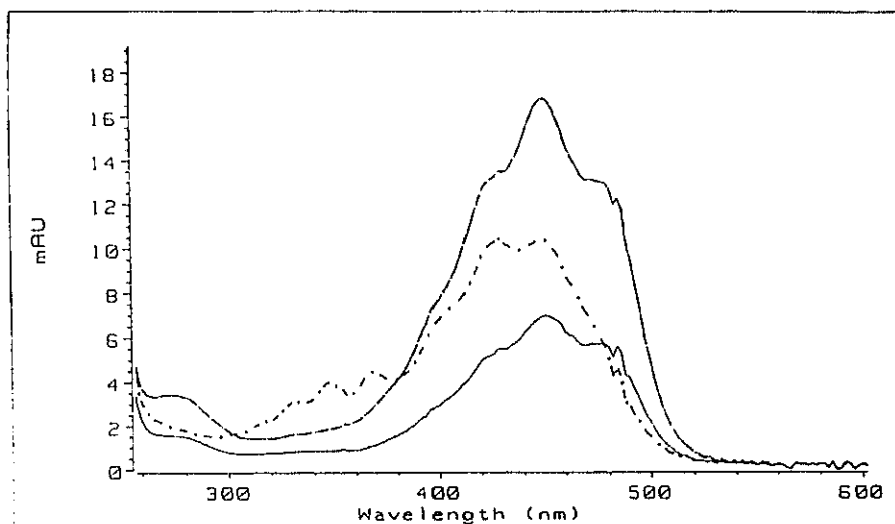


Figura 49: Espectros de UV/visible medidos en el disolvente empleado en la separación por CLAE del éster de β -Criptoxantina (—) (pico 23) (λ_{max} 428, 450 y 478 nm), del éster de β -Criptoxantina-5,6-epóxido (--) (pico 21) (λ_{max} (428), 446 y 469 nm) y del éster de 9-*cis* ó 9'-*cis*-Criptoxantina (-·-) (pico 20) (λ_{max} (420), 444 y 472 nm, picos *cis* 330, 348 y 368 nm).

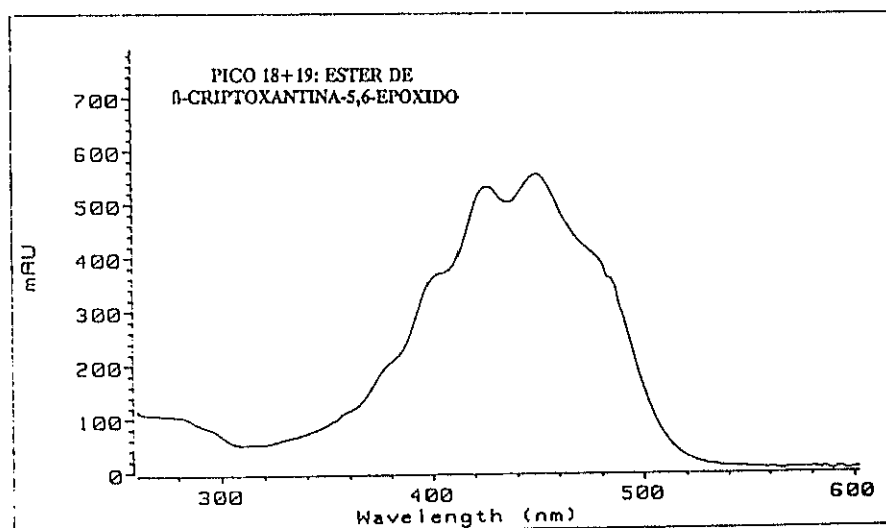


Figura 50: Espectros de UV/visible medidos en el disolvente empleado en la separación por CLAE del pico 18+19 constituido fundamentalmente por un éster de la β -Criptoxantina-5,6-epóxido (λ_{max} (428), 446 y 469 nm).

Los extractos de las rodajas de papayas hermafroditas y hembras después de ser sometidas al proceso de congelación y durante su almacenamiento en estado congelado, presentan una composición de compuestos carotenoides cualitativamente similar. Todos los picos separados por CLAE son los mismos que los encontrados en los extractos de papayas frescas. Las Figuras 51 y 52 (200a,b) muestran los cromatogramas obtenidos a partir de extractos de rodajas de papayas hermafroditas y hembras, respectivamente conservadas en estado congelado durante 12 meses.

4.2.6.1. XANTOFILAS.

El contenido en xantofilas a lo largo de la maduración, y conservación en estado congelado a -24°C, se muestran en las Tablas 16 y 17 y 18 y 19 del anexo, respectivamente. Asimismo, en las Figuras 53 y 54 se muestra gráficamente su evolución.

*** Efecto de la maduración.**

El contenido en criptoflavina y β -criptoxantina (picos 11 y 12)

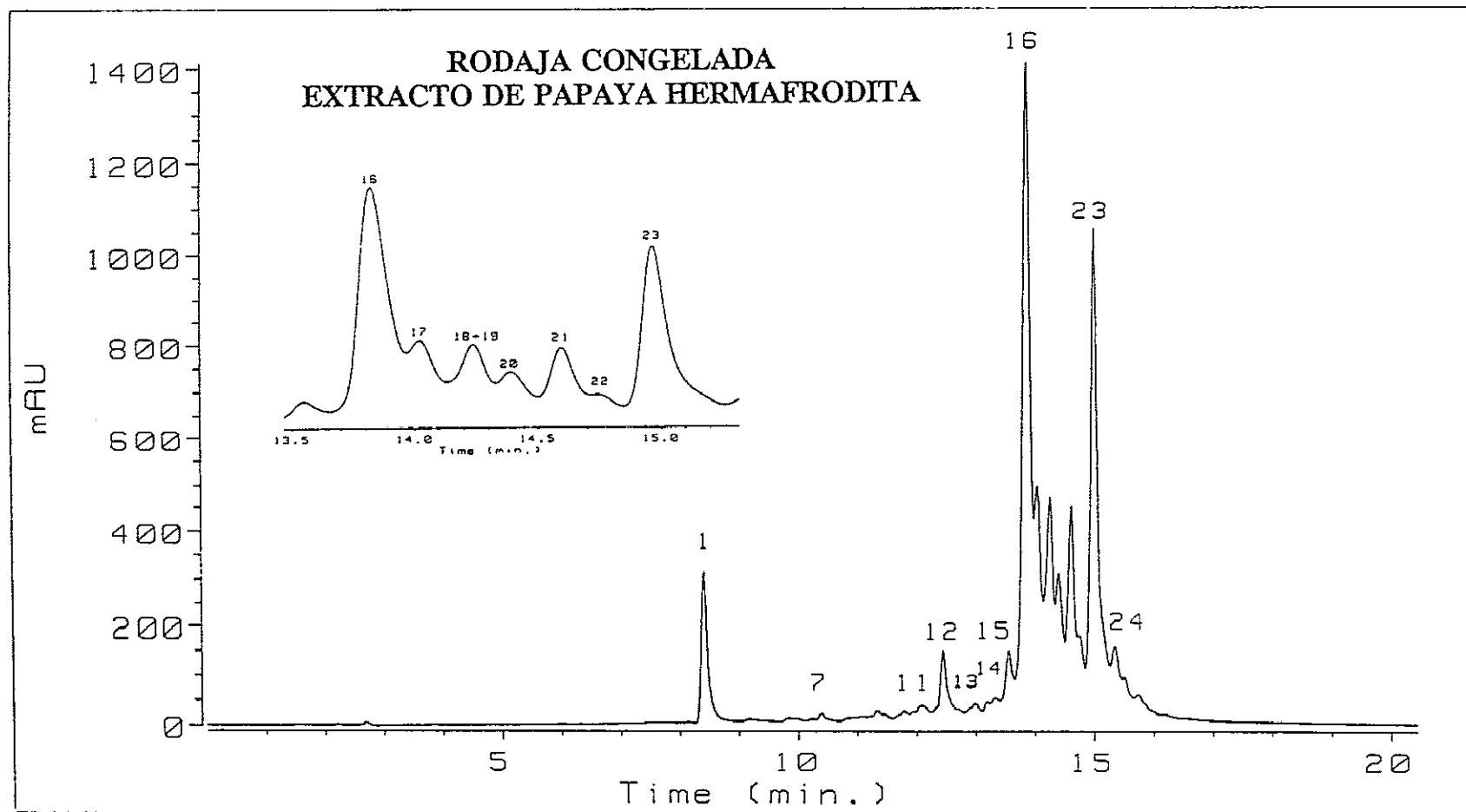


Figura 51: Cromatograma de los pigmentos carotenoides separados por CLAE en fase reversa a partir de los extractos no saponificados de papayas hermafroditas después de 12 meses de conservación en estado congelado.

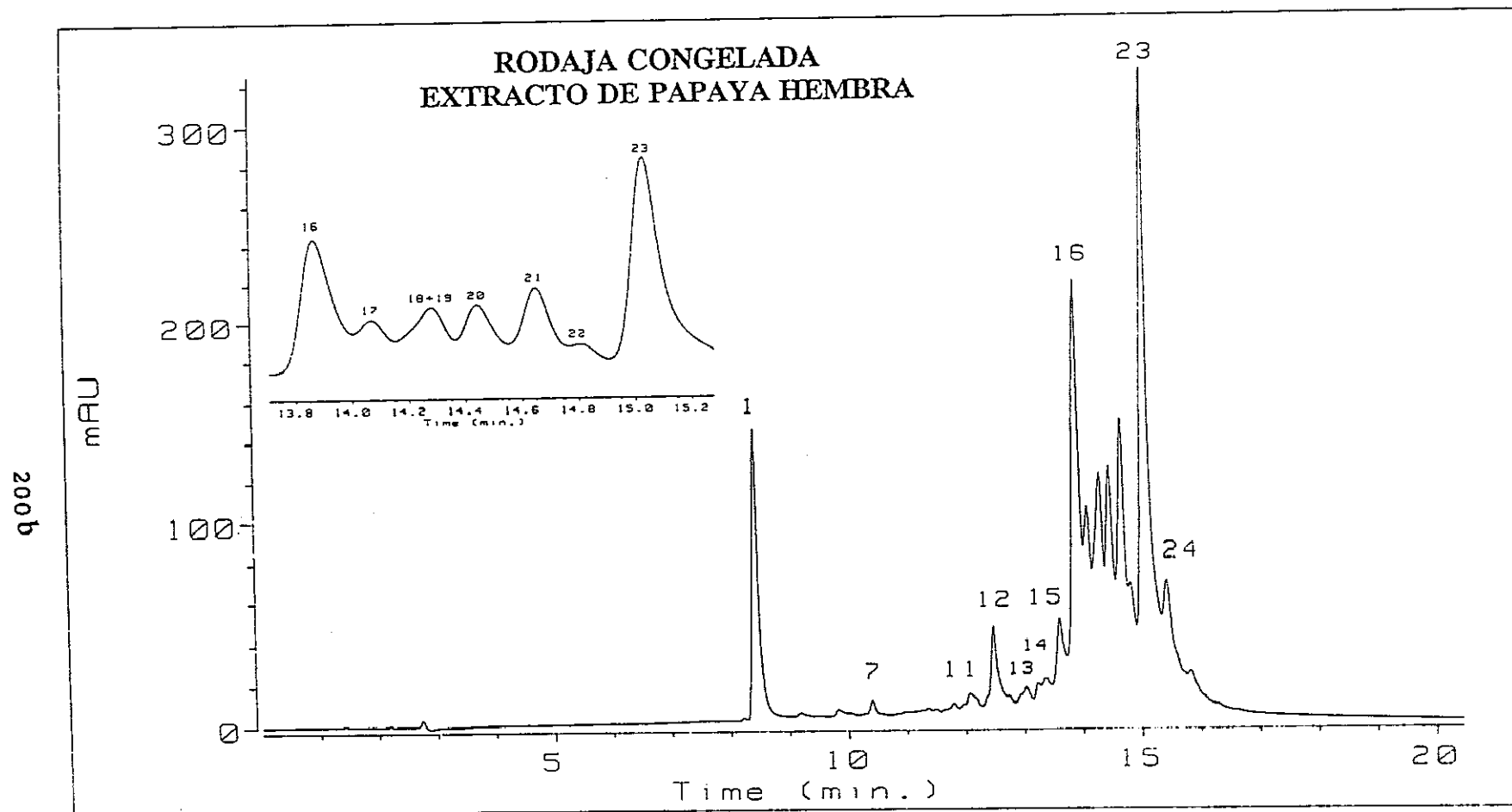


Figura 52: Cromatograma de los pigmentos carotenoides separados por CLAE en fase reversa a partir de los extractos **no saponificados** de papayas hembras después de 12 meses de conservación en estado congelado.

aumenta con la maduración de los frutos, ya sean hermafroditas o hembras. Sin embargo, la zeaxantina no se comporta de igual manera, Tablas 16 y 17 (anexo), respectivamente.

En los frutos hermafroditas, el contenido en zeaxantina (pico 7) disminuye de forma significativa (25,53%) a los 10 días de conservación a 14°C. En los frutos senescentes, el contenido en zeaxantina resultó ser el mismo que en los frutos preclimáticos, (0,050 $\mu\text{g/g}$).

El contenido en zeaxantina no se modifica hasta que el fruto alcanza la senescencia (15 días), sufriendo en esta fecha un aumento estadísticamente significativo (28,99%), como puede observarse en la Figura 53.

El contenido en xantofilas resultó ser muy superior en las papayas hembras que en las hermafroditas. Hay que destacar la ausencia de criptoflavina en los frutos de papaya hermafroditas preclimáticos; así como que, la diferencia en el contenido de zeaxantina entre los frutos preclimáticos de ambos sexos no fue estadísticamente significativa.

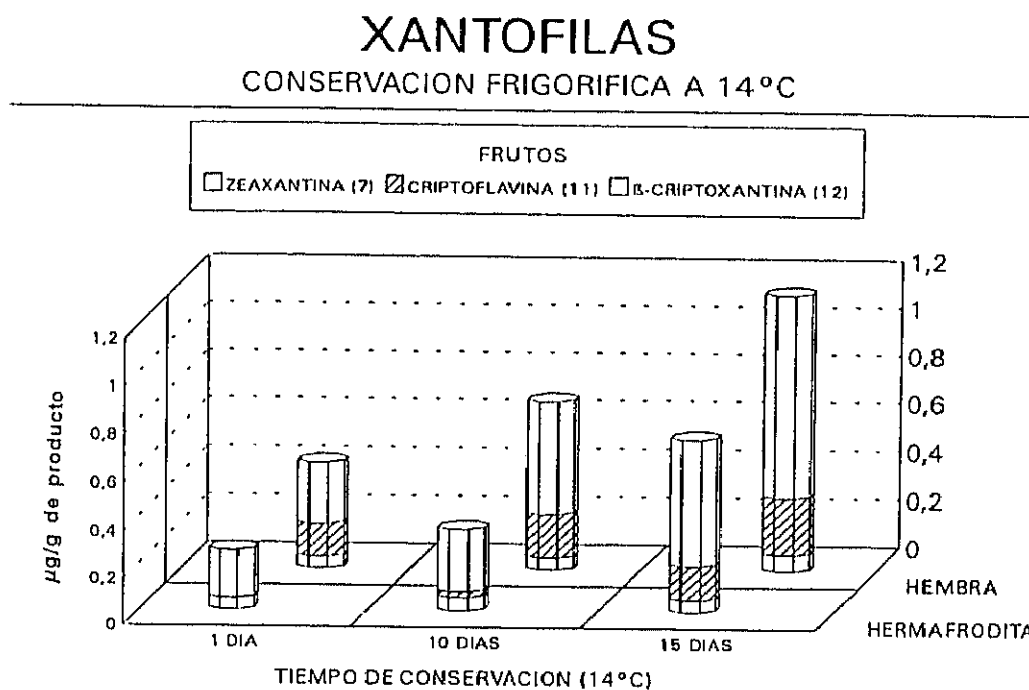


Figura 53: Evolución de las xantofilas durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

El proceso de congelación provoca en las muestras hermafroditas un aumento significativo (6,67%) en el contenido de β -criptoxantina, y no significativo en el de zeaxantina y criptoflavina, Tabla 11 (anexo).

Por el contrario, en las muestras hembras el proceso de congelación provoca disminuciones extremadamente significativas ($p < 0,01$) en las tres

xantofilas separadas.

Mientras que la diferencia en el contenido de zeaxantina entre los frutos de papaya hermafroditas y hembras, antes de ser sometidos al proceso de congelación, no fue significativa, el contenido en criptoflavina y β -criptoxantina sí que lo fue, Figura 54.

El proceso de congelación, produce que las diferencias en el contenido de las diversas xantofilas sean extremadamente significativas, atendiendo al origen de las rodajas, bien sean hermafroditas o hembras.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

Las xantofilas experimentan gran diversidad de cambios durante la conservación de las rodajas de papaya en estado congelado. Estos cambios, deben describirse de manera individual para cada compuesto mayoritario para facilitar su estudio y las posibles consecuencias de su evolución sobre el valor nutricional del producto, Tablas 18 y 19 (anexo).

La **zeaxantina (pico 7)** aumenta de manera significativa ($p < 0,05$) a los 3 y 9 meses de conservación a -24°C , tanto en las rodajas de papaya hermafroditas como hembras, Figura 52. Asimismo, la **β -criptoxantina (pico 12)** de las muestras hembras experimentó una evolución semejante.

En las rodajas hermafroditas se observó una disminución significativa y continua del contenido en β -criptoxantina hasta los 6 meses de conservación a -24°C . A partir de este período su contenido fluctuó entre valores de 0,401 y $0,370\mu\text{g/g}$ de producto (12 meses), como muestra la Tabla 11 (anexo).

La **criptoflavina (pico 11)** fluctuó entre valores de 0,081 a $0,146\mu\text{g/g}$ de producto, durante la conservación de las rodajas de papaya hermafroditas, experimentando incrementos significativos a los 3 y 9 meses. Sin embargo, el contenido de esta xantofila se mantiene constante hasta los 3 meses de conservación en las rodajas hembras, disminuyendo a partir de esta fecha de manera continua hasta el final de la conservación (12 meses, $0,075\mu\text{g/g}$) (Tabla 11, Anexo).

La diferencia en el contenido de xantofilas durante la conservación en el estado congelado de las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, resultó ser muy significativa ($p < 0,01$) en todos los períodos de conservación. Las rodajas

congeladas hembras presentaron siempre los valores más elevados en este grupo de carotenoides, Tabla 12 (anexo).

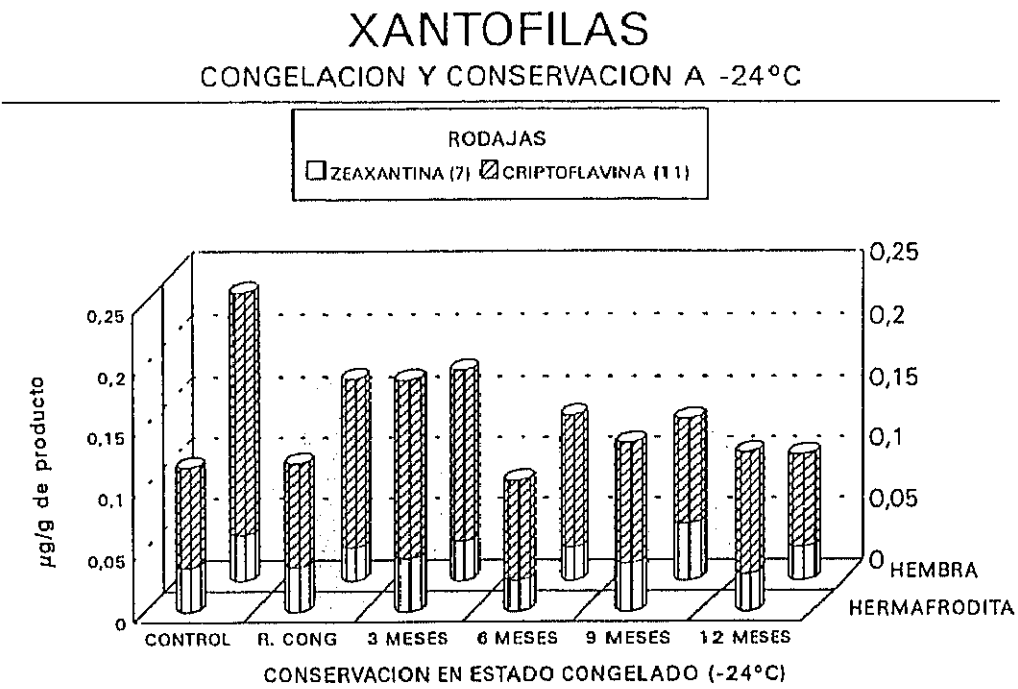


Figura 54: Evolución de las xantofilas durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.2.6.2. CAROTENOIDES HIDROCARBONADOS.

El contenido de carotenoides hidrocarbonados, licopeno, neolicopeno A y β-caroteno, en los frutos de papaya durante su maduración y su posterior procesado por congelación y conservación (-24°C), se muestra en las Tablas 18 y 19 (anexo), respectivamente.

* Efecto de la maduración.

El contenido en **licopeno (pico 16)** aumenta de forma significativa ($p < 0,05$) durante la maduración de los frutos. Este incremento resultó ser del 12,93% en las muestras hermafroditas y del 58,66% en las hembras.

El contenido en **neolicopeno A (pico 17)**, disminuyó a los 10 días de conservación en cámara frigorífica a 14°C, tanto en los frutos hermafroditas como en las hembras. Sin embargo, a continuación sufrió un brusco aumento de su contenido en los frutos de ambos sexos al alcanzar la senescencia, Figura 55.

Como se ha explicado anteriormente, el **β -caroteno (pico 18)**, aparece solapado con un éster de **β -criptoxantina 5,6-epóxido (pico 19)**. Sin embargo, la concentración de **β -caroteno** resultó ser tan baja que en las Tablas 16, 17, 18 y 19 (anexo), aparece cuantificado conjuntamente con el pico 19 (éster de la **β -criptoxantina 5,6-epóxido**).

Tanto en los frutos no maduros (1 día de conservación a 14°C) como en los considerados como maduros (10 días), el contenido en carotenoides hidrocarbonados fue significativamente mayor en los frutos hermafroditas que

en los hembras. Sin embargo, cuando ambos frutos alcanzan la senescencia, estos últimos presentan mayor contenido.

CAROTENOS HIDROCARBONADOS

CONSERVACION FRIGORIFICA A 14°C

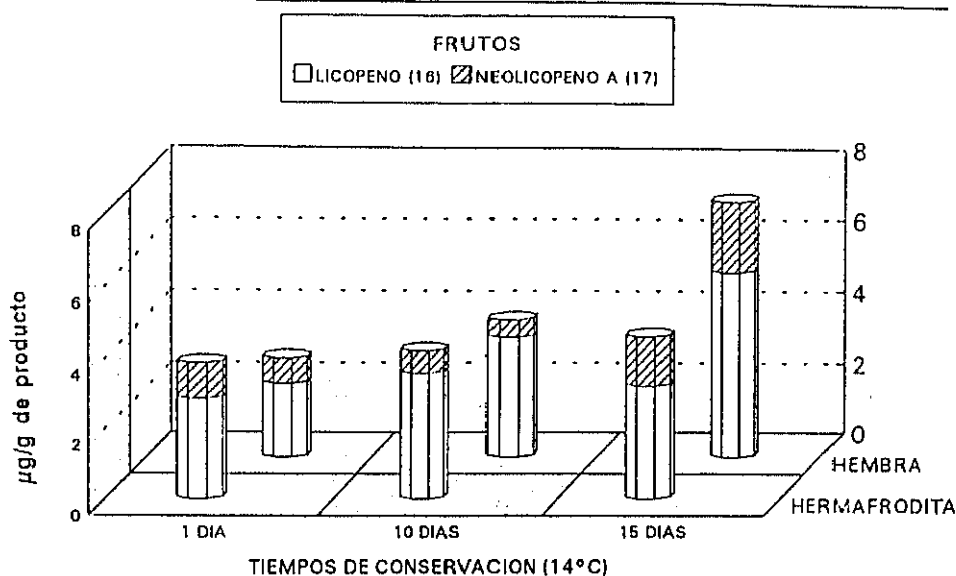


Figura 55: Evolución de los carotenos hidrocarbonados durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

Antes de realizar la congelación, el contenido en carotenoides hidrocarbonados fue mayor en los frutos hermafroditas ($3,565\mu\text{g/g}$) que en los hembras ($2,707\mu\text{g/g}$), siendo la diferencia entre ambos significativa ($p < 0,05$), Tabla 11 y 12 (anexo).

El proceso de congelación provoca un aumento estadísticamente significativo en el contenido de **licopeno (picos 16)** y **neolicopeno A (picos 17)**, tanto en las rodajas de papayas hermafroditas (39,94% y 24,52%, respectivamente) como hembras (22,62% y 35,04%, respectivamente), Figura 56.

En las rodajas de papaya recién congeladas, la diferencia en el contenido de carotenoides hidrocarbonados de los dos tipos de fruto fue significativa ($p < 0,05$), siendo las muestras hermafroditas las que presentaron el contenido más elevado ($5,421 \mu\text{g/g}$).

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

El **licopeno (pico 16)** experimenta una evolución similar en las muestras de papaya hermafroditas y hembras durante la conservación en estado congelado. A los 3 meses de conservación a -24°C se observó una disminución significativa ($p < 0,05$) en el contenido de este carotenoide tanto en las rodajas hermafroditas como en las hembras (57,04% y 54,92%), Tablas 18 y 19 (anexo), respectivamente. Posteriormente la concentración de licopeno aumentó de manera continua hasta los 9 meses. Sin embargo, a los 12 meses de conservación el contenido en neolicopeno, volvió a disminuir

significativamente hasta $(2,485\mu\text{g/g})$ en las muestras hermafroditas y $(1,108\mu\text{g/g})$ en las hembras, Figura 56.

El contenido en **neolicopeno (pico 17)** de las rodajas de papaya hembras experimenta una evolución similar a la que se ha descrito anteriormente para el licopeno. Por el contrario, en las muestras hermafroditas el neolicopeno A sufre una disminución progresiva durante todo el período de conservación en estado congelado (12 meses); excepto a los 6 meses de conservación en que se observa un aumento significativo en su concentración respecto a las muestras conservadas durante 3 meses (44,08%).

CAROTENOS HIDROCARBONADOS

CONGELACION Y CONSERVACION A -24°C

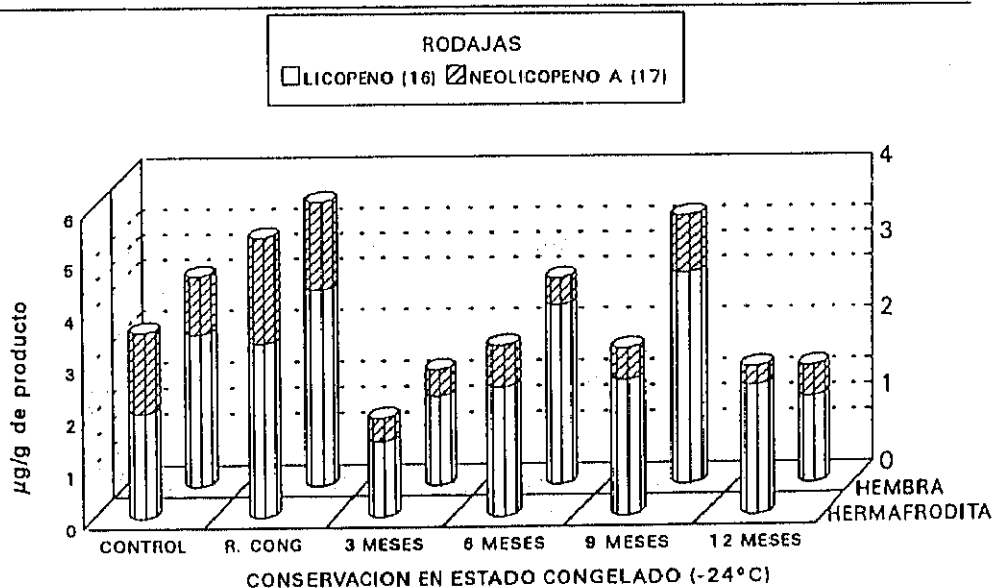


Figura 56: Evolución de los carotenos hidrocarbonados durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.2.6.3. ESTERES DE XANTOFILAS.

El contenido en ésteres de xantofilas con ácidos grasos de las muestras objeto de estudio, se muestra en las Tablas 16, 17, 18 y 19 (anexo).

*** Efecto de la maduración.**

El comportamiento seguido por los ésteres de xantofilas durante la conservación frigorífica a 14°C de los frutos de papaya hermafroditas y hembras es complejo, por lo que se describirán los cambios observados en cada éster de manera individual.

El éster de β -criptoxantina 5,6-epóxido (pico 19), que se cuantifica a partir del mismo pico que el β -caroteno (ver sección de carotenoides hidrocarbonados), experimenta un aumento continuo durante la maduración de las papayas hermafroditas, Figura 57. Este éster alcanzó una concentración de 1,154 μ g/g en frutos senescentes. Por el contrario en papayas hembras se observó que este aumento sólo tenía lugar a partir de los 10 días de conservación (14°C); es decir, durante la fase de sobremaduración del fruto.

Asimismo, la concentración de los ésteres de violaxantina (picos 13

y 14) y luteína (pico 15) sufrieron incrementos progresivos durante la maduración de los frutos hembras, Figura 57. Sin embargo, en los hermafroditas el éster de la luteína no experimenta cambios significativos durante este período; mientras que el contenido en el éster de violaxantina experimentó una disminución progresiva hasta que el fruto alcanza la madurez (10 días), aumentando ligeramente en el fruto sobremaduro (0,228 $\mu\text{g/g}$, pico 13 y 0,542 $\mu\text{g/g}$, pico 14).

La evolución de los ésteres de la β -criptoxantina (picos 22, 23 y 24) identificados en papaya se puede observar en la Figura 58. Los ésteres de la β -criptoxantina no presentaron modificaciones durante los primeros 10 días de conservación en fresco en papayas hermafroditas. Sin embargo, a partir de esta fecha experimentan un aumento significativo ($p < 0,05$) cuando los frutos alcanzan la senescencia, Tabla 9 (anexo). Este comportamiento sólo se observó en los frutos hembras en uno de los dos ésteres de β -criptoxantina (pico 23), Tabla 10 (anexo).

Otro éster de la β -criptoxantina, identificado como 9-*cis* o 9'-*cis* criptoxantina (pico 20), manifestó una evolución similar en los frutos hermafroditas y hembras, Figura 55. Durante la conservación frigorífica, la concentración de este éster sufrió un descenso progresivo hasta que el fruto

alcanzó la madurez, aumentando progresivamente a medida que progresa la senescencia, Tabla 9 (anexo).

El contenido total en ésteres de xantofilas fue estadísticamente diferente entre las papayas hermafroditas y hembras en todo el período de conservación en fresco (14°C). Los frutos hembras mantuvieron valores superiores en la concentración de todos los ésteres, salvo en uno de los compuestos identificados como un **éster de violaxantina (pico 14)**, cuyo contenido fue más elevado en los frutos hermafroditas en todos los estados de madurez, Tabla 9 (anexo).

El éster de **β -criptoxantina (pico 22)** fue más abundante en las papayas hermafroditas que en las hembras cuando se analiza el fruto en estado preclimatérico. Sin embargo, a medida que avanza la maduración se produce un aumento progresivo de manera que su contenido en frutos hembras fue superior al de los hermafroditas, Tabla 9 y 10 (anexo).

El éster de **β -criptoxantina 5,6-epóxido (pico 21)** presentó una mayor concentración en frutos preclimatéricos hermafroditas que en hembras, Figura 57. Sin embargo, a partir de los 10 días de conservación la diferencia en el contenido de este carotenoide se hace no significativa

entre los frutos de ambos sexos. Cuando el fruto alcanza la senescencia, la concentración de este compuesto fue mayor en las papayas hembras (2,00 $\mu\text{g/g}$ de producto).

En cuanto al **éster de luteína (pico 15)**, los frutos hembras exhibieron contenidos significativamente superiores cuando se estudiaba el fruto no maduro. Sin embargo, estas diferencias se hacen no significativas en los frutos hembra y hermafrodita cuando alcanzan la madurez, Figura 57.

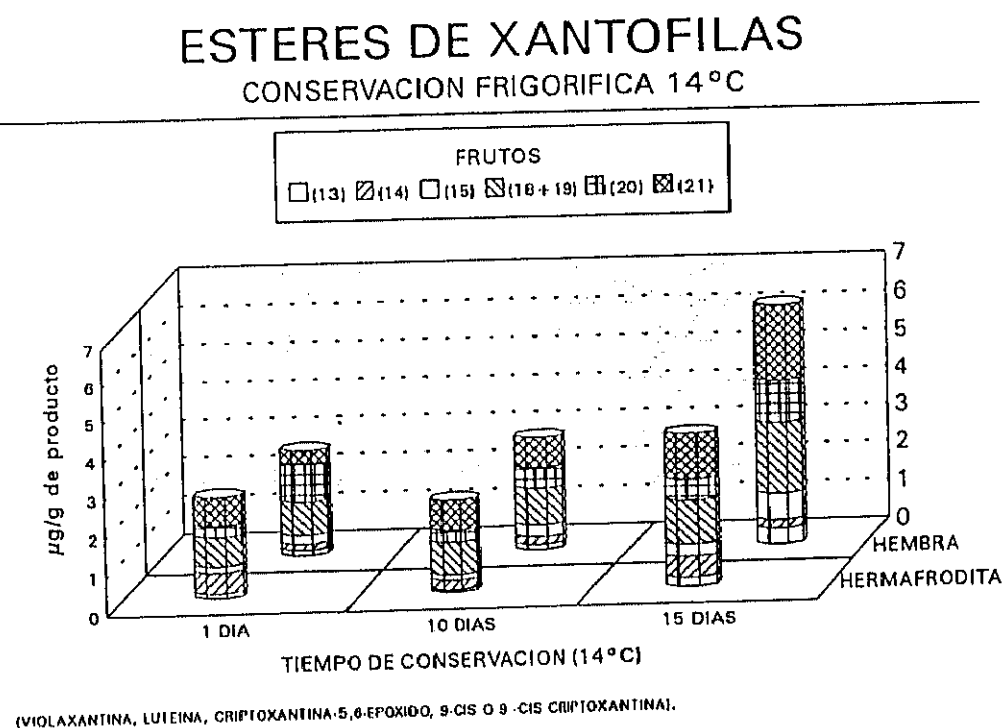
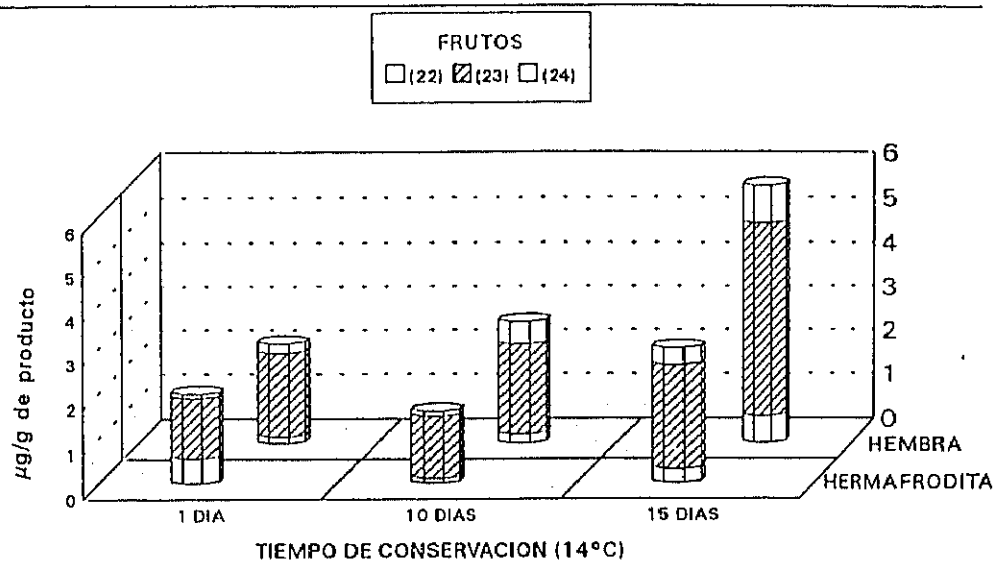


Figura 57: Evolución de los ésteres de xantofilas (picos 13, 14, 15, 18+19, 20 y 21) durante la conservación frigorífica (14°C).

ESTERES DE LAS XANTOFILAS

CONSERVACION FRIGORIFICA A 14°C



ESTERES DE LA β -CRIPTOXANTINA

Figura 58: Evolución de los ésteres de xantofilas (picos 22, 23 y 24) durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

El proceso de congelación produjo un efecto contrario en el contenido en ésteres de xantofilas en las rodajas de papaya dependiendo de su origen, bien procedieran de frutos hermafroditas o hembras.

Como consecuencia de la congelación se observó un aumento

significativo en la concentración de la mayoría de los ésteres de xantofilas en las muestras hermafroditas, Tablas 18 y 19 (anexo). Este incremento fue significativo para los ésteres de violaxantina (pico 14), de luteína (pico 15), de β -criptoxantina 5,6-epóxido (pico 21) y de β -criptoxantina. Sin embargo, este efecto no fue observado en la evolución de la concentración de los ésteres de violaxantina (pico 13) y de luteína (pico 15), mientras que en los ésteres de 9-*cis* ó 9'-*cis* criptoxantina y de β -criptoxantina se manifestó una disminución significativa, Figura 59.

Por el contrario, el proceso de congelación produce una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$) de la concentración de todos los ésteres de xantofilas en las rodajas hembras, Tabla 12 (anexo).

*** Evolución durante la conservación en estado congelado.**

En las Figuras 59 y 60 se puede estudiar la evolución de los ésteres de xantofilas durante la conservación en estado congelado. Asimismo en las Tablas 18 y 19 (anexo) se detallan las concentraciones en cada uno de estos carotenoides durante este estudio.

A continuación, se detallarán brevemente los resultados más relevantes encontrados en la evolución de estos carotenoides.

El contenido del éster de la β -criptoxantina 5,6-epóxido (pico 21) fluctuó en los frutos hermafroditas entre valores de 0,948 y 1,121 $\mu\text{g/g}$ de producto y entre 0,60 y 1,061 $\mu\text{g/g}$ de producto, como muestra la Figura 59.

El éster de la violaxantina (pico 13) se mantiene en niveles similares durante los 3 primeros meses de conservación. A partir de esta fecha fluctúa hasta el final de la misma, fecha en que su contenido fue de 0,094 $\mu\text{g/g}$ en las rodajas de papaya hembra. Sin embargo, en las rodajas hermafroditas congeladas este éster experimentó un aumento progresivo hasta los 9 meses de conservación, Figura 59.

El éster de la β -criptoxantina (pico 23) experimentó una disminución progresiva y significativa (33,47%) en las rodajas de papaya hermafrodita conservadas hasta 6 meses a -24°C . A partir de esta fecha, el contenido en este éster aumentó significativamente hasta los 12 meses de conservación, en que presentó un valor de 2,543 $\mu\text{g/g}$ de producto. Sin embargo, en las muestras hembras el contenido de este éster fluctúa entre valores de 1,755 y 2,374 $\mu\text{g/g}$ de producto, no manifestando la misma tendencia durante el período de

conservación que las rodajas hermafroditas, Figura 60.

El contenido en el **éster de la β -criptoxantina (pico 24)** de las muestras hermafroditas, se mantiene en niveles similares durante los 3 primeros meses de conservación en estado congelado. A continuación, fluctúa hasta el final de la conservación siendo su contenido a los 12 meses de conservación ($0,367\mu\text{g/g}$). Por el contrario, en las muestras hembras, se observó una tendencia al aumento del contenido en este éster, Figura 60.

El **éster de la luteína (pico 15) y el éster de la β -criptoxantina 5,6-epóxido (pico 19)**, fluctuaron de igual forma en las muestras hermafroditas, es decir la tendencia al incremento resultó ser significativa ($p < 0,05$), durante la conservación a -24°C , salvo a los 6 meses cuando se produce una disminución significativa, según se muestra en la Figura 57. En las rodajas hermafroditas y hembras conservadas a -24°C , el contenido de estos ésteres aumenta hasta los 3 meses de conservación, fluctuando a continuación para alcanzar un valor de 0,24 y $0,682\mu\text{g/g}$ de producto, Figura 59.

El **éster de la luteína (pico 14)** sufre en las rodajas de papaya hembra un aumento significativo ($p < 0,005$) hasta los 3 meses de conservación en estado congelado ($0,166\mu\text{g/g}$) y es a partir del 6º mes de almacenamiento a -

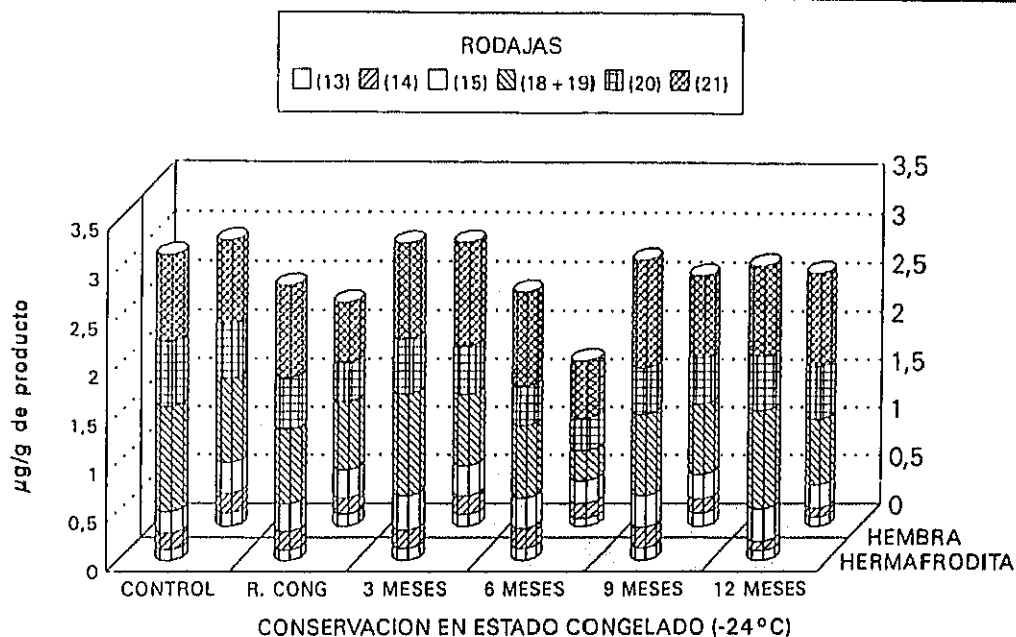
24°C cuando se produce una disminución estadísticamente significativa alcanzando a los 12 meses de conservación un valor de 0,096 µg/g de producto. En las rodajas hermafroditas este éster de la luteína aumenta significativamente hasta los 9 meses de conservación (9,39%) disminuyendo muy bruscamente (53,99%) a los 12 meses de conservación en estado congelado, Figura 59.

El éster *9-cis* ó *9'-cis* criptoxantina 5,6-epóxido (pico 20) fluctuó entre valores de 0,413 y 0,568 µg/g de producto en las rodajas de papaya hermafrodita y entre 0,337 y 0,545 µg/g de producto en las muestras hembras, coincidiendo en que el mayor contenido de este carotenoide se cuantificó cuando ambos tipos de rodajas se mantuvieron en estado congelado 12 meses, Tabla 12 (anexo).

Por último, el éster de la β-criptoxantina (pico 22) no pudo ser cuantificado por su baja concentración durante los 3 y 9 meses de conservación a -24°C en las rodajas de papaya hermafrodita. A los 12 meses de conservación en estado congelado alcanzó un valor de 0,235 µg/g de producto. En las rodajas hembras el contenido de β-criptoxantina (pico 22) fluctuó entre valores de 0,120 y 0,486 µg/g, Tablas 18 y 19 (anexo).

ESTERES DE XANTOFILAS

CONGELACION Y CONSERVACION A -24°C



(VIOLAXANTINA, LUTEINA, CRIPTOXANTINA-5,8-EPOXIDO, 8-CIS O 9-CIS CRIPTOXANTINA).

Figura 59: Evolución de los ésteres de xantofilas (picos 13, 14, 15, 18+19, 20 y 21) durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

ESTERES DE LAS XANTOFILAS

CONGELACION Y CONSERVACION A -24°C

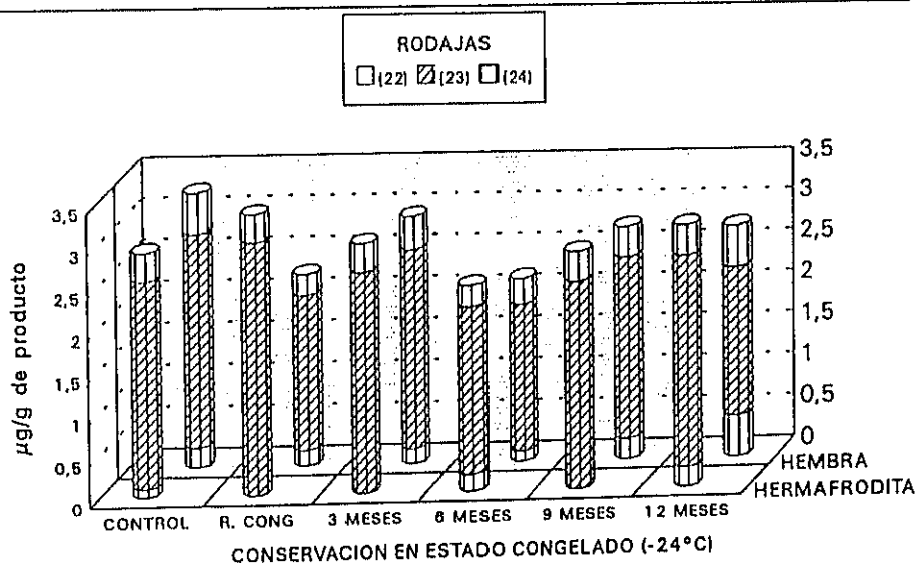


Figura 60: Evolución de los ésteres de xantofilas (picos 22, 23 y 24) durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.2.6.4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.

Los perfiles cromatográficos de los compuestos carotenoides separados por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE), a partir de extractos no saponificados de papaya hermafrodita y hembra (Figura 44), son cualitativamente semejantes observándose cambios cuantitativos, durante la conservación frigorífica a 14°C, Tabla 9 y 10 (anexo).

Es de destacar, que la composición de carotenoides observada en las papayas hermafroditas o hembras (cv. Sunrise) procedentes de las Islas Canarias, presentan un perfil cromatográfico por CLAE más sencillo que los observados por Philip y Chen (1988a,b) y Khachick y col. (1991) en sus estudios en papaya Hawaiana.

Los cromatogramas de los extractos de papaya hermafrodita y hembra, antes y después de realizar la saponificación se pueden observar en las Figuras 46a y 46b, respectivamente. La identificación de los pigmentos separados por CLAE de los extractos saponificados y no saponificados, se muestran en la Tabla VII. En el cromatograma del extracto saponificado, Figura 45, se observa la presencia de licopeno (pico 16) como producto mayoritario, la desaparición de los picos correspondientes a los ésteres de xantofilas, así como

una regeneración de la β -criptoxantina (pico 12) como xantofila mayoritaria.

El presente estudio se llevó a cabo sobre extractos de papaya hermafrodita y hembra no saponificados, con el fin de evitar posibles modificaciones en la composición real de los pigmentos y poder estudiar la evolución del contenido de los mismos (Khachik y col., 1991; Deli y col., 1992).

* Maduración.

Durante la maduración de los frutos se produce un aumento en el contenido total de carotenos, lo que indica que tiene lugar la síntesis de estos pigmentos (Gross, 1987). En las Tablas 16 y 17 (anexo) pueden observarse los cambios en el contenido de los carotenos principales aislados en los frutos de papaya hermafrodita y hembra, así como el aumento en el contenido total de estos pigmentos durante la conservación frigorífica

Los frutos de papaya hembra presentan un mayor incremento en el contenido total de carotenoides durante su conservación a 14°C. En los frutos preclimáticos hembras, el contenido total de compuestos carotenoides resultó ser 8,25 $\mu\text{g/g}$ y en los senescentes aumentó en un 59,78 %, alcanzando el valor

de 20,51 $\mu\text{g/g}$. Sin embargo, aunque el contenido en carotenoides en los frutos preclimatéricos hermafroditas (8,76 $\mu\text{g/g}$) es semejante al de los frutos preclimatéricos hembras, cuando el fruto alcanza la senescencia su contenido es tan sólo de 12,38 $\mu\text{g/g}$, es decir un 39,64% menos que los frutos hembras de este mismo grado de madurez. Por tanto, el contenido de carotenoides en los frutos hembras conservados a 14°C durante 10 y 15 días, es mayor que en los frutos hermafroditas.

Los pigmentos mayoritarios separados por CLAE en todas las muestras tanto de papayas hermafroditas como hembras fueron los carotenos hidrocarbonados, licopeno (pico 16) y neolicopeno A (pico 17). El contenido de ambos compuestos aumentó con la maduración de los frutos, siendo el licopeno el compuesto mayoritario a lo largo del proceso de maduración. Este hecho coincide con la composición determinada por Yamamoto (1964), para papayas de pulpa roja.

Igualmente, durante la maduración se observa un incremento de los ésteres de las xantofilas, fundamentalmente de β -criptoxantina y β -criptoxantina-5,6-epóxido. Mínguez-Mosquera y Hornero-Méndez (1994a,b) observaron un comportamiento parecido durante el proceso de maduración de productos con una coloración naranja/roja como es el pimiento rojo (*Capsicum*

annuum, L.).

El hecho de que el contenido en xantofilas aumente ligeramente durante la conservación frigorífica a 14°C podría ser debido a que algunos frutos, sobre todo aquellos que manifiestan una coloración naranja/rojiza, cuando alcanzan la madurez, sufren una progresiva esterificación de las xantofilas durante la maduración (Mínguez-Mosquera y Hornero-Méndez, 1994b).

Además, hay que destacar que en los extractos no saponificados de papayas hermafroditas y hembras, no se pudo detectar β -criptoxantina-5,6-epóxido. Sin embargo, la presencia de este compuesto en los extractos de papaya Hawaiana del grupo Solo, determinada por Yamamoto (1964) y Philip y Chen (1988a), muestra una clara diferencia entre las papayas procedentes de las Islas Canarias y las procedentes de Hawaii.

La papaya como otros frutos climatéricos, sufre cambios fisiológicos y bioquímicos durante la maduración (Marín y Cano, 1992 ; MacGrath y Karahadian, 1994). El cambio de color de la pulpa del fruto de amarillo a naranja parece estar relacionado con un aumento en el contenido de compuestos carotenoides. Además, se produce un incremento en la concentración de pigmentos rojizos (licopeno), que se correlaciona con un

aumento en el parámetro objetivo a_L (intensidad de color rojo), cuando se realiza la medida del color utilizando un colorímetro, Tabla 13 (anexo).

El parámetro "Hue", que relaciona los valores de a_L (tonalidad roja-verde) y b_L (tonalidad amarilla-azul), es un buen indicador de la evolución de la maduración de frutos climatéricos (Robertson y col. 1990). El comportamiento esperado en los frutos climatéricos es una disminución de este parámetro. Esta evolución es la observada durante la maduración de frutos de papaya hermafrodita y hembra. También se observa una disminución en la luminosidad (parámetro L), a medida que progresa la maduración. Este hecho podría ser debido al aumento de pigmentos rojos (principalmente licopeno y neolicopeno A) que conlleva, asimismo una significativa disminución del parámetro b_L (color menos amarillo).

* Congelación y conservación en estado congelado.

Como se describió en el apartado de Objetivos, en este trabajo de investigación se pretendía determinar el posible origen bioquímico de algunas de las alteraciones de la calidad que se producen en el proceso de congelación y conservación en estado congelado en trozos de frutos, en este caso de

rodajas de papaya. En la Bibliografía referente al tema se encuentran estudios que describen la aparición de olores y sabores extraños y cambios de color durante la conservación de papaya procesada en diferentes productos (purés, jugos, néctares, enlatados, mermeladas, liofilizados...) (Chan y Cavaletto, 1982), no habiéndose encontrado ningún dato sobre los posibles cambios en la composición de los pigmentos de constitución (carotenoides) ni en el color del producto, que pudieran producirse como consecuencia del proceso por congelación y la conservación en estado congelado de rodajas de papaya.

El proceso de congelación del tejido no provoca cambios importantes en la composición cualitativa de los compuestos carotenoides, Tablas 18 y 19 (anexo). En los cromatogramas obtenidos a partir de los extractos de muestras de papaya congeladas se observa que la naturaleza de los compuestos no se ha modificado como consecuencia del proceso, Figuras 51 y 52. Asimismo, durante la conservación en estado congelado tampoco se manifiestan cambios cualitativos de importancia. Si se estudian los cromatogramas obtenidos de los extractos de las muestras conservadas 3,6,9 y 12 meses a -24°C , podemos concluir que se mantiene la composición relativa de los distintos grupos de compuestos carotenoides.

En los cromatogramas obtenidos a partir de extractos de papaya

hermafrodita y hembra conservadas en estado congelado durante 12 meses, se observan cambios en la proporción relativa de los distintos pigmentos responsables del color, Figuras 51 y 52, respectivamente. Los picos correspondientes al licopeno (pico 16) y el éster de la β -criptoxantina (pico 23) invierten su proporción relativa a medida que avanza el proceso de congelación, en las rodajas de papaya hembra, Figura 51. Por tanto, las rodajas se van tornando de color naranja más intenso, al ponerse en evidencia mayoritariamente los pigmentos de esta coloración.

El análisis cuantitativo de estos pigmentos indica que no tiene lugar una pérdida significativa de carotenoides como consecuencia del proceso de congelación y conservación en estado congelado. Tablas 18 y 19 (anexo).

Por el contrario y, según se ha especificado en el apartado de resultados, tiene lugar un aumento del 20% en el contenido total de carotenoides en las muestras hermafroditas recién congeladas. Sin embargo, en las rodajas hembras se observa un ligero descenso 8%. De estos resultados se puede concluir que la cristalización y el crecimiento de cristales que se produce como consecuencia del proceso de congelación del agua de constitución del tejido, provoca la ruptura de las membranas celulares, entre las que se encuentra la de los cromoplastos. Este hecho produce una mayor

facilidad de la extracción de los pigmentos en los tejidos congelados y posteriormente congelados, que justificaría el incremento observado en la concentración en carotenoides totales en las muestras de papaya hermafrodita.

Durante la conservación en estado congelado se produce una disminución significativa en el contenido en compuestos carotenoides totales en las rodajas de papaya hembra. Mientras que, en las muestras hermafroditas la concentración de pigmentos al final de la conservación no experimenta grandes cambios. El diferente comportamiento observado en los dos tipos de papayas puede relacionarse con las diferencias en composición bioquímica observadas entre los dos tipos de tejidos.

Las rodajas de papaya hembras mantienen una considerable actividad enzimática, principalmente de peroxidasa, incluso en temperaturas de conservación en estado congelado. Estas muestras exhiben una mayor actividad de peroxidasa durante la conservación, que pueden provocar reacciones de oxidación de algunos constituyentes de los tejidos, entre los que se podrían encontrar los carotenoides. Estas reacciones de oxidación producen la degradación de los mismos y, por tanto, la modificación en la distribución cuantitativa de los mismos.

Por el contrario, en las muestras hermafroditas, en las que las actividades enzimáticas son más bajas, el proceso que predomina durante la conservación es un incremento en la severidad de ruptura de las membranas que se acumula con la provocada por la congelación inicial de los tejidos. Este daño físico acumulativo se produce como consecuencia de sucesivas recrystalizaciones de los cristales de hielo distribuidos inicialmente dentro y fuera de las células y, se origina por pequeñas fluctuaciones en la temperatura de conservación de los productos congelados.

Por otra parte, existen diferencias en los sistemas enzimáticos de peroxidasa entre los frutos de papaya hembra y hermafroditas. Como se ha descrito en el apartado sobre estos parámetros bioquímicos, durante la conservación en estado congelado de las muestras hembras, el patrón isoenzimático de peroxidasa se mantiene prácticamente inalterado. Sin embargo, en los tejidos congelado de papaya hermafrodita se produce la pérdida de la isoenzima más aniónica a partir del sexto mes de conservación, lo que constituye un cambio en el patrón isoenzimático que puede repercutir sobre la aparición de cambios de calidad en el producto. Estas diferencias junto con la menor actividad total del enzima pueden ser el origen de las distintas evoluciones observadas en los carotenoides totales.

Otra posible explicación para justificar los cambios observados en este parámetro durante la conservación en estado congelado de papaya estribaría en la acción de otro de los enzimas oxidativos relacionados con los cambios de color en los tejidos vegetales, la polifenoloxidasa. Sin embargo, como en este estudio se ha comprobado que los niveles de actividad de polifenoloxidasa se mantienen muy bajos en el producto congelado. Además, el patrón de isoenzimas de polifenoloxidasa permanece inalterado durante toda la conservación, tanto en las rodajas de papayas hembras como en las hermafroditas.

La implicación del sistema enzimático de peroxidasa en las modificaciones de la calidad de los tejidos vegetales procesados ha sido demostrada por distintos autores (Whitaker, 1985; Marín y Cano, 1993). Estos últimos autores observaron diferencias significativas en el patrón isoenzimático de peroxidasa entre distintas variedades de frutos de mango, que justificarían la mayor aptitud de una variedad frente a otra al proceso de congelación y conservación en estado congelado.

Por otra parte, la pequeña pérdida de pigmentos observada en los tejidos de papaya hembra también puede ser justificada por la propia naturaleza y estabilidad de los compuestos carotenoides hidrocarbonados que

contienen. Como se ha indicado, los carotenoides hidrocarbonados más resistentes a los cambios de temperatura (Khachik y col., 1991). Por lo tanto, se puede pensar que el color en la papaya será más estable durante la conservación en estado congelado, que en aquellos frutos en que entre sus carotenoides predominen las xantofilas libres, que son compuestos mucho más susceptibles a su degradación bioquímica.

El estudio de la evolución de cada pigmento durante la conservación en estado congelado puede verse en las Tablas 18 y 19 (anexo). Hay que recordar que los frutos de papaya hermafrodita presentaban un contenido mayor de licopeno y neolicopeno A (24%) (pigmentos rojos) que los frutos hembras frescos, lo que va a influir en la apreciación sensorial de las muestras procesadas.

El proceso de congelación produce un aumento de estos pigmentos rojos (licopeno y neolicopeno A) en los dos tipos de papaya, siendo más acusado en las papayas hermafroditas (27 y 34%, respectivamente). Asimismo, en estas muestras hermafroditas se produce un aumento de los pigmentos amarillos (xantofilas y ésteres de xantofilas), (2,6%) que no tiene lugar en las hembras Tablas 18 y 19 (anexo). Estos resultados tienen su justificación por el daño mecánico producido por el proceso de cristalización del agua anteriormente

citado. Sin embargo, la disminución de los pigmentos amarillos (xantofilas y ésteres de xantofilas) en las muestras hembras puede ser ocasionado por procesos de degradación enzimática.

A pesar de la existencia de cambios cuantitativos tanto en carotenoides totales, como en los pigmentos individuales en las muestras de papaya congeladas y conservadas, no es posible correlacionar directamente estos cambios con la modificación del color que se ha obtenido a partir de la evaluación objetiva del mismo por colorimetría triestímulo (equipo Hunter Lab).

Los valores obtenidos de L (luminosidad), a_L (tonalidad roja) y b_L (tonalidad amarilla) de las muestras de papaya congeladas no reflejan ni el incremento ni el descenso en la concentración de los pigmentos rojos y amarillos obtenida en estas mismas muestras analizados por CLAE para los distintos períodos de conservación, Tabla 14 (anexo).

Esta circunstancia refleja que el color de las muestras, visualmente observado, no depende exclusivamente del contenido en pigmentos carotenoides, siendo probable que el proceso de congelación y posterior conservación en estado congelado produzcan la transformación de otros

constituyentes de los tejidos, que den lugar a compuestos coloreados. Este sería el caso de la oxidación de compuestos polifenólicos incoloros para dar lugar a compuestos de reacción pardos que producirían un oscurecimiento del producto.

4.3 CARACTERISTICAS SENSORIALES.

En la actualidad la evaluación sensorial de los alimentos juega un papel cada vez más importante en la determinación de la estabilidad de los mismos en el tiempo, bajo condiciones de tiempo real y acelerado. Dethmers, (1981), definen la evaluación sensorial como "una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones ante aquellas características de los alimentos y materiales, tal y como se perciben por los sentidos del gusto, olfato, vista, oído y tacto".

Las pruebas analíticas realizadas en el laboratorio, se utilizan para la evaluación de los productos en términos de diferencias o semejanzas y para la identificación y cuantificación de características sensoriales.

El índice de aceptabilidad indica el rango de calidad que los catadores adjudican al producto. Este rango oscila entre 1 y 10 siendo; inaceptable (1-4), poco aceptable (5-6), aceptable (7-8) y muy aceptable (9-10).

En los ensayos descriptivos analíticos, las muestras se presentan simultáneamente. Las escalas de categoría se utilizan con muestras codificadas, presentándose de forma simultanea o secuencial. Consisten en una serie de palabras estructuradas en un orden ascendente o descendente de intensidad en un línea vertical u horizontal. En el presente estudio los catadores evaluaron la apreciación de **color** (naranja pálido, naranja brillante y naranja pardo), **sabor** (muy dulce, dulce y poco dulce) y **textura** (blando, ligeramente firme y firme).

Los catadores se seleccionan por su capacidad para percibir diferencias entre los productos ensayados y verbalizar las percepciones. Costell y Duran (1981) explican las pruebas sensoriales más utilizadas en el control de calidad de alimentos. El número recomendado de evaluadores es 10 y el mínimo recomendado es 5.

4.3.1. RODAJAS DE PAPAYA.

4.3.1.1. TEXTURA.

La textura considerada como el efecto combinado de las propiedades mecánicas y la sensación percibida por el consumidor cuando el alimento es ingerido, está determinada por la integridad de la pared celular y su contenido, que dan a la célula su característica presión interna (Brown, 1977).

Los tejidos vivos de los vegetales están constituidos por células turgentes llenas de agua, lo que les confiere una firmeza apreciable. El mantenimiento de la turgencia es función de la integridad de la membrana semipermeable entre la pared celular y el resto del contenido celular. Con la congelación, la membrana celular se daña, y el agua y las sustancias solubles salen de las células, perdiéndose la rigidez de la membrana celular y modificándose las características texturales.

La masticación produce información esencial para el ensayo subjetivo de textura (Christensen, 1982).

Los sistemas fundamentales de medida de textura explican el

comportamiento del alimento mediante el estudio de sus propiedades mecánicas, presentando la ventaja de que las constantes se definen en unidades físicas reproducibles (Szczesniak, 1963).

Para medir la dureza de los alimentos se utilizan ensayos de ruptura. En estos ensayos se mide la fuerza de deformación requerida para romper el material objeto de estudio. Esta fuerza varía con la velocidad de deformación y su duración, así como con la geometría, composición y homogeneidad de la muestra a ensayar (Ilker y Szczesniak, 1990).

4.3.1.1.1. Análisis instrumental de la firmeza.

La determinación de la firmeza se realizó según la descripción realizada en el apartado 3.6.1.1. de materiales y métodos.

*** Efecto de la maduración.**

La firmeza tanto de frutos hermafroditas como hembras sufre una disminución estadísticamente muy significativa durante la maduración. Esta

pérdida de firmeza alcanza el 94% para los frutos hermafroditas y 86,2% en los hembras si se atiende al fruto preclimatérico (1 día de conservación), 33,29 N y 20,58 N, respectivamente y al sobremaduro (15 días de conservación), 2,00 N y 2,84 N, respectivamente. Asimismo, existen diferencias significativas en la firmeza de ambos frutos en todos los grados de madurez, salvo a los 10 días de su conservación a 14 °C, según se muestra en la Figura 61.

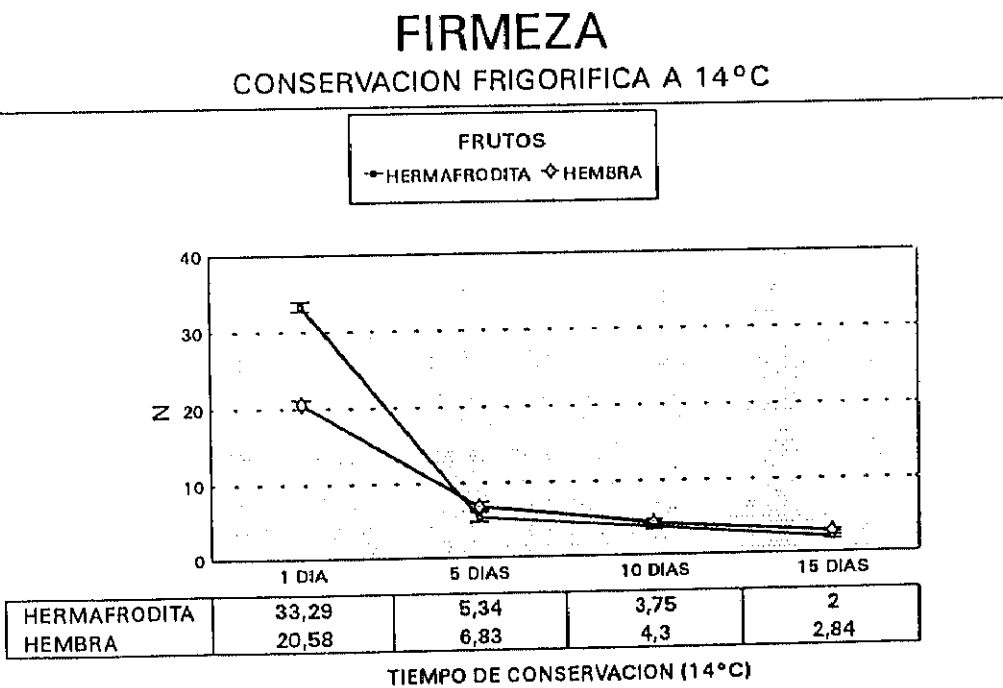


Figura 61: Evolución de la firmeza durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

Las rodajas de frutos de papaya hermafrodita son, antes del proceso de congelación, significativamente más firmes que los hembras, 1,66 y 1,40 N/g de producto, respectivamente.

El proceso de congelación no produce un efecto estadísticamente significativo en la firmeza de frutos de papaya hermafroditas y hembras. La diferencia en la firmeza de las rodajas de papaya hermafrodita y hembra recién congeladas no es estadísticamente significativa, siendo 1,58 y 1,35 N/g producto, respectivamente, Tabla 14 (anexo).

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

Las rodajas de papaya hermafrodita fueron perdiendo firmeza a lo largo de la conservación, observándose solamente un incremento (43,78%) estadísticamente significativo a los 3 meses de su almacenamiento a -24°C, en relación a las rodajas recién congeladas. Sin embargo, el comportamiento de las rodajas de papaya hembra fue contrario, pues la firmeza se mantuvo

durante la conservación en estado congelado aumentando ligeramente a los 12 meses de almacenamiento, Figura 62.

La firmeza de ambos frutos no fue estadísticamente significativa en los frutos recién congelados y a los 9 meses de conservación, siendo ligeramente superior en los frutos hembras a lo largo de todo el estudio.

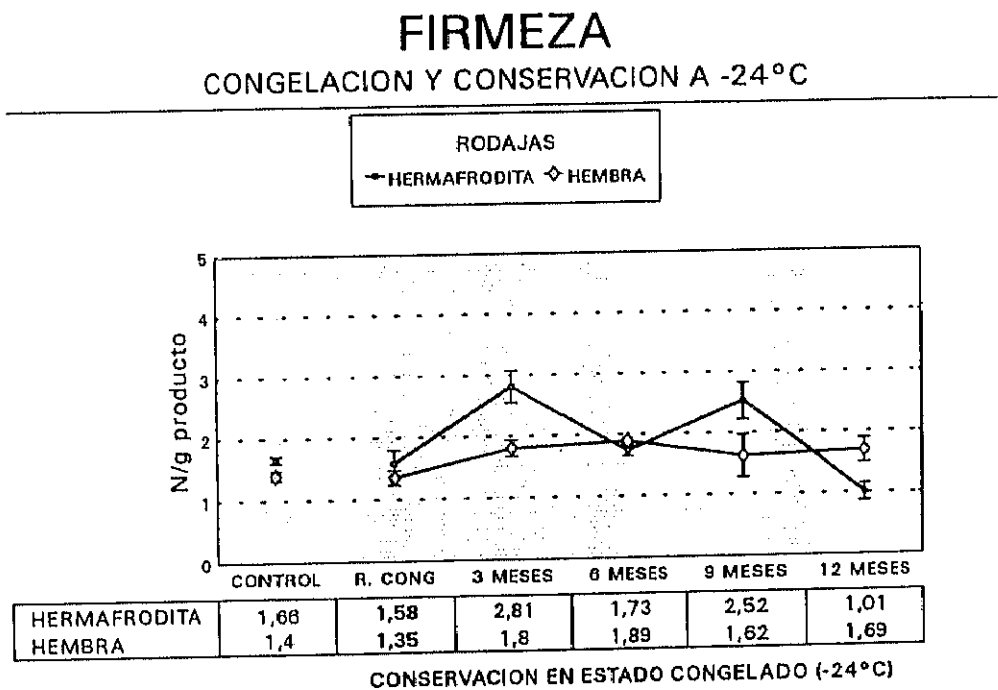


Figura 62: Evolución de la firmeza durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.3.1.1.1.1. Discusión de los resultados.

Un cambio obvio durante la maduración de los frutos de papaya es la reducción de la firmeza debido a un ablandamiento causado por los cambios hidrolíticos de las protopectinas en pectinas solubles. La demetilación y despolimerización enzimática de las protopectinas origina polímeros de bajo peso molecular con pocos grupos metoxilo que son insuficientes para mantener la firmeza del fruto. Existen dos enzimas, poligalacturonasa y pectinmetilesterasa, que juegan un importante papel al alterar la composición de la pared celular (Salunkhe, 1984).

Durante la maduración de los frutos de papaya hermafrodita y hembra se observa una disminución de la firmeza que es extremadamente significativa entre el 1^{er} día y los 5 días de conservación a 14°C, lo que podría estar relacionado con dichos cambios en la composición de la pared celular, Figura 61.

En la Figura 62, se puede observar los efectos del proceso de congelación sobre la firmeza de las rodajas de papaya. En las rodajas de papaya hermafrodita y hembra recién congeladas se observó una disminución de la firmeza que estaba acompañada de una disminución en el contenido de

pectinas totales (ver apartado de pectinas 4.2.4.).

Durante la conservación en estado congelado de rodajas de papaya hermafrodita, se observó que la firmeza del producto fluctuaba entre 1,01 y 2,58 N/g de producto, como se describió en el apartado de resultados. Estas fluctuaciones podrían estar relacionadas con el contenido en pectinas totales. Si se estudian en conjunto los resultados se observa que los valores de firmeza están correlacionados directamente con el contenido en pectinas de los frutos.

Las rodajas procedentes de papaya hembra conservadas en estado congelado, mantuvieron su firmeza durante el almacenamiento aumentando ligeramente al final de la conservación a -24°C , lo que pudo ser debido a la presencia de agua ligada, más difícilmente congelable, que afectaba en la determinación de la firmeza (Salunkhe, 1984); o bien, a una deshidratación de las mismas como consecuencia de las fluctuaciones de la temperatura de conservación.

4.3.1.1.2. Análisis sensorial de la textura.

La textura se define sensorialmente como la suma de las fuerzas y

sensaciones distintas al sabor, percibidas en la boca al masticar un trozo de alimento. La sensación de textura depende principalmente, de la deformación que sufre el alimento al aplicarle una presión, pero también de determinadas propiedades superficiales estimuladas por la vista y el tacto. Existen numerosos atributos sensoriales que contribuyen a la sensación de textura, como por ejemplo la firmeza, la viscosidad, la elasticidad, la masticabilidad, la fibrosidad, la capacidad de adherencia... (Brennan, 1984).

4.3.1.1.2.1. Aceptabilidad de la textura.

Los resultados referentes a la aceptabilidad de la textura de las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, proporcionados por el panel de catadores, se muestra en la Figura 63.

*** Efecto del proceso de congelación.**

La aceptabilidad de la textura no fue estadísticamente diferente en los trozos de papaya hermafrodita y hembra antes de realizar el proceso de

congelación (7,9 y 7,8 respectivamente), calificándolas como aceptables, Tabla 16 (anexo).

El proceso de congelación provoca, tanto en los trozos de frutos hermafroditas como hembras, una disminución de la aceptabilidad de la textura (22,78% y 33,33% respectivamente), calificándolas como poco aceptables.

Además, dicho proceso hace que se manifiesten diferencias estadísticamente significativas en la aceptabilidad entre la textura de ambos frutos recién congelados.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

Los trozos procedentes de frutos hermafroditas sufren una disminución en la aceptabilidad de la textura que es estadísticamente significativa a los 12 meses de conservación. En esta fecha, la valoración atribuida al producto fue de poco aceptable (4,9), Tabla 16 (anexo).

Sin embargo, en las rodajas hembras conservados en estado congelado, la aceptabilidad de la textura aumenta significativamente a los 3 meses de

conservación en estado congelado (21,21 %). A los 9 meses de almacenamiento se produce una disminución en dicho parámetro del 36,36% respecto al análisis anterior. La aceptabilidad de la textura a los 12 meses de conservación, fue la misma que a los 3 meses de almacenamiento a -24°C , es decir que fueron calificados como poco aceptables lindando con aceptables (6,6), Figura 63.

La aceptabilidad de la textura fue estadísticamente diferente a los 9 y 12 meses de conservación en estado congelado de las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, Tabla 16 (anexo).

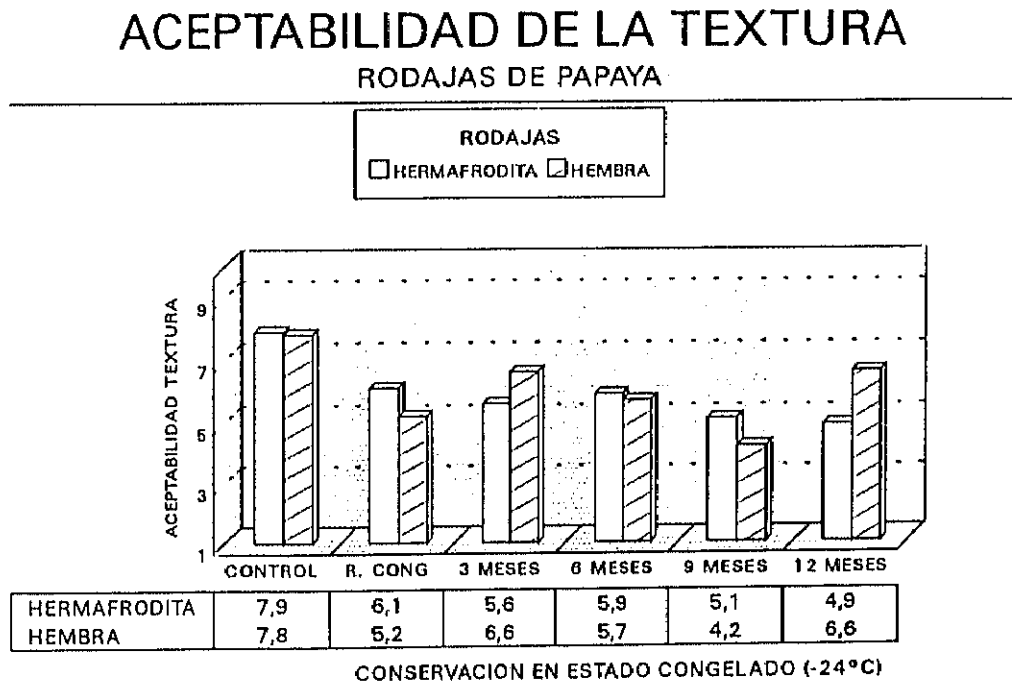


Figura 63: Análisis sensorial: Aceptabilidad de la textura en rodajas de papaya.

4.3.1.1.2.2. Análisis descriptivo de la firmeza.

El cuadro de panelistas evaluaron la firmeza de las muestras calificándolas como blandas, ligeramente firmes y firmes.

*** Efecto del proceso de congelación.**

La textura de las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, antes de ser sometidas al proceso de congelación, fue calificada por el 50% de los catadores como ligeramente firme. Como muestra la Figura 64, hubo un 30% de catadores que opinaron que las rodajas hermafroditas eran más bien firmes mientras que un 40% calificó igualmente las rodajas hembras. La textura resultó ser independiente del sexo, Tabla 17 (anexo).

El proceso de congelación, provoca que los catadores califiquen las rodajas de papaya hermafrodita como firmes en un 70%, y las hembras como blandas por un 80%. En este caso, la textura resultó ser dependiente del sexo con un valor significativo del ($p < 0,05$).

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

A los 3 meses de conservación en estado congelado, el 70% de los panelistas evaluaron las rodajas de papaya hermafrodita como blandas, mientras que el 60% opinó que las muestras hembras eran ligeramente firmes, como lo demuestra la Figura 64.

A los 6 meses de conservación a -24°C , se produce una dispersión en la respuesta de los catadores tanto para rodajas procedentes de frutos hermafroditas como de los hembras.

A los 9 meses de almacenamiento, las rodajas de papaya hermafrodita fueron calificadas como blandas por un 50% de los catadores y ligeramente firmes por el otro 50%. Por el contrario, las muestras procedentes de papaya hembra, fueron calificadas como blandas por el 70% de los mismos, Tabla 17 (anexo).

A los 12 meses de conservación de rodajas de papaya hermafrodita y hembra en estado congelado, volvía a producirse una dispersión en la respuesta que sobre la textura daban los catadores.

A partir del 3^{er} mes y hasta el final de la conservación a -24°C, el análisis estadístico utilizado nos indica que no existe una relación dependiente entre la textura observada por los panelistas y el sexo del fruto.

ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA FIRMEZA RODAJAS DE PAPAYA

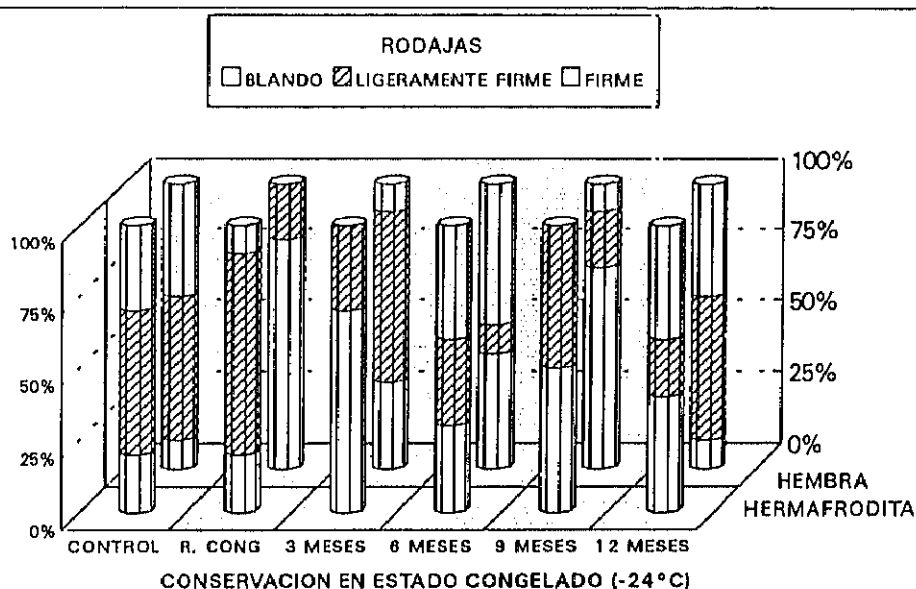


Figura 64: Análisis sensorial: Análisis descriptivo de la firmeza en rodajas de papaya.

4.3.1.1.3. Discusión de los resultados.

Existe una buena correlación entre los resultados obtenidos objetivamente a través de la medida instrumental de la firmeza y aquellos proporcionados por el panel de catadores.

Los panelistas no distinguen una firmeza diferente entre las rodajas de papaya hermafrodita y las que procedían de frutos hembras antes de ser sometidas al proceso de congelación, siendo ambas calificadas como ligeramente firmes y siendo la medida instrumental 1,66 y 1,40 N/g, respectivamente.

Sin embargo, mientras que en la medida instrumental apenas se observan variaciones cuando se realiza el proceso de congelación en rodajas de papaya hermafrodita y hembra, los panelistas detectan una ligera pérdida de calidad en las rodajas hembras calificándolas mayoritariamente como blandas. Este efecto podría ser debido a que las rodajas hembras podrían contener mayor cantidad de agua ligada, que al ser más difícilmente descongelable, le provoque al catador una sensación de que el producto que está ingiriendo es más blando.

La tendencia de la textura de las muestras de papaya hermafrodita, expresada por el panel de catadores, resultó ser más semejante a las medidas instrumentales que la seguida por las muestras hembras. Este hecho, podría estar determinado por el mayor contenido en pectinas de las rodajas de papaya hembra, que al gelificar debido a la actuación de la pectinmetilesterasa,

produce en los panelistas la sensación de un mayor ablandamiento del producto.

Es de destacar que a los 12 meses de conservación a -24°C , la mayoría de los catadores evalúan como más aceptables las rodajas de papaya hembra que las hermafroditas (6,6 y 4,9, respectivamente). Además los catadores califican en su mayoría a las rodajas de papaya hembra como ligeramente firmes y a las hermafroditas como blandas. Este hecho coincide asimismo con la medida instrumental.

Además, la evaluación de la textura no es instantánea, sino que comprende diferentes etapas, como la apreciación visual del alimento sólido, el comportamiento del alimento durante la manipulación previa a la ingestión, y la integración de las sensaciones bucales experimentadas durante la masticación. Por otra parte, la valoración de un determinado atributo sensorial, va a estar influida por la aceptabilidad de los demás. Se sabe que el color juega un papel muy importante en la apreciación sensorial de los alimentos, influyendo en la aceptación y preferencia de los mismos, y en la apreciación de otros atributos, como el sabor y la textura (Clydesdale, 1984b).

4.3.1.2. COLOR.

A lo largo del tiempo, los consumidores han juzgado la calidad general de las frutas por el color que presentan, pues el color es un indicador visual de posibles alteraciones (MacDougall, 1984). El color influye en la aceptación y preferencia de los alimentos, e incluso en la apreciación de otros atributos sensoriales como el sabor y la textura. Por ello, es necesario que las frutas tengan un color atractivo, que cumpla las expectativas del consumidor.

4.3.1.2.1. Análisis instrumental del color.

La subjetividad inherente y la carencia de reproducibilidad en la especificación del color visual, evaluación sensorial, condujo al desarrollo de la medida instrumental de color. Tales instrumentos se basan generalmente en el principio de que un color puede describirse matemáticamente como combinación de las intensidades de los tres colores primarios. Los aparatos, cuyo principio está basado en la colorimetría triestímulo, permiten evaluar objetivamente el color, midiendo directamente la luz reflejada por un objeto. Las coordenadas que proporcionan estos instrumentos que van a definir el color de las muestras, son L , a_L , b_L , (Clydesdale, 1984a). L es un índice

fotométrico que varía de 0 (negro) a 100 (blanco), mientras que a_L y b_L son los índices cromáticos que varían entre -100 y +100, y nos permiten localizar el color en un plano (a_L, b_L) perpendicular al eje L.

(+ a_L) es función de la intensidad del color rojo.

(- a_L) es función de la intensidad del color verde.

(+ b_L) es función de la intensidad del color amarillo.

(- b_L) es función de la intensidad del color azul.

Kostyla y Clydesdale (1978) propusieron la utilización de la colorimetría triestímulo como medida objetiva del color que permite establecer una correlación entre las preferencias de los consumidores y este atributo. El objetivo de este apartado fue determinar si existe una relación entre la medida instrumental de color realizada según el apartado de materiales y métodos, y la apreciación de los consumidores.

Los colorímetros triestímulo se utilizan ampliamente para medir los cambios de color en productos vegetales (Gnanasekharan y col., 1992).

Los resultados de la medida instrumental del color de las muestras de papaya hermafrodita y hembra se representan en las Figuras 65 a 70.

* Efecto de la maduración.

La maduración provoca cambios estadísticamente muy significativos en los parámetros L , a_L , b_L de color, tanto en los frutos hermafroditas como en las hembras, Figuras 65, 66 y 67.

En los frutos hermafroditas, estos tres parámetros aumentan significativamente, respecto al fruto preclimatérico ($L=31,64$, $a_L=6,51$ y $b_L=17,97$). La luminosidad, L , aumenta hasta que el fruto alcanza la madurez ($L=32,96$) a los 10 días de conservación disminuyendo a continuación cuando el fruto está sobremaduro ($L=29,72$). El parámetro a_L aumenta hasta los 5 días de conservación a 14°C . En el fruto maduro se observa una ligera disminución ($a_L=8,11$) y en el sobremaduro un ligero aumento respecto al anterior ($a_L=8,42$). En cuanto al parámetro b_L se puede apreciar un aumento igualmente a los 5 días que se mantiene en el fruto maduro ($b_L=19,4$), y a continuación disminuye incluso por debajo del valor del fruto en estado preclimatérico ($b_L=17,22$).

En las muestras hembras, se produce una disminución continua estadísticamente significativa en los parámetros L y b_L como se muestra en las Figuras 65 y 67. El parámetro a_L aumenta de forma significativa a los 5 días

de conservación ($a_L=9,43$), disminuyendo ligeramente cuando el fruto alcanza su madurez, Figura 66. En el fruto senescente se produce un aumento extremadamente significativo (31,80%) respecto al fruto preclimático, alcanzando un valor de $b_L=11,07$, Tabla 13 (anexo).

Si comparamos en ambos frutos estos parámetros entre sí, resultan ser estadísticamente diferentes. Los valores de los parámetros L y b_L son, durante toda la maduración, mayores en los frutos hembras que en los hermafroditas. Sin embargo ocurre todo lo contrario con los valores de a_L .

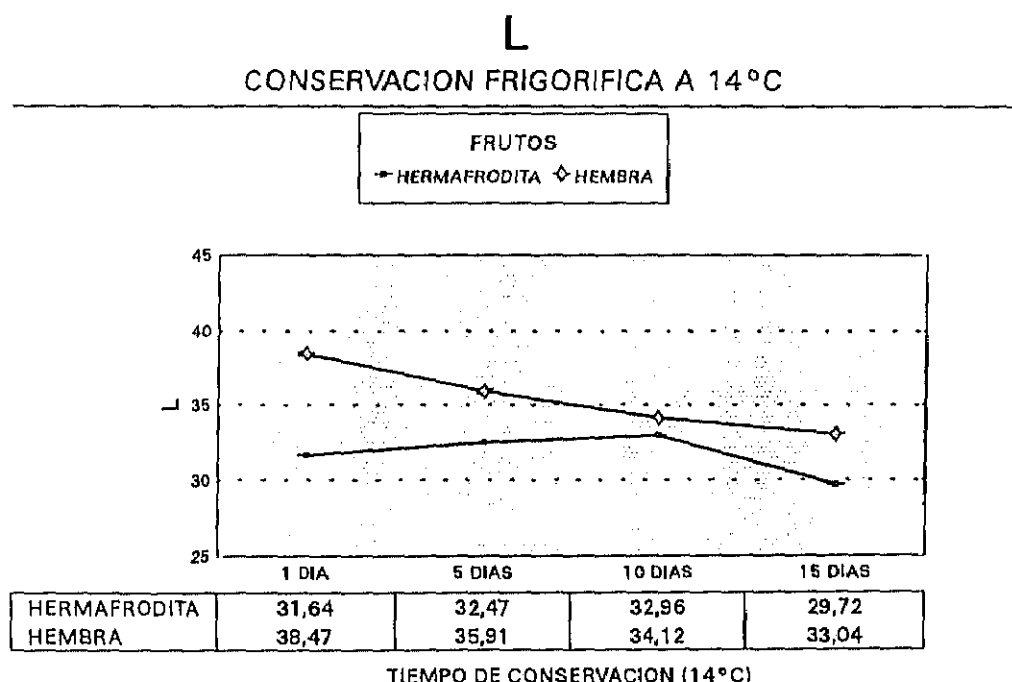


Figura 65: Determinación del parámetro L durante la conservación frigorífica (14°C).

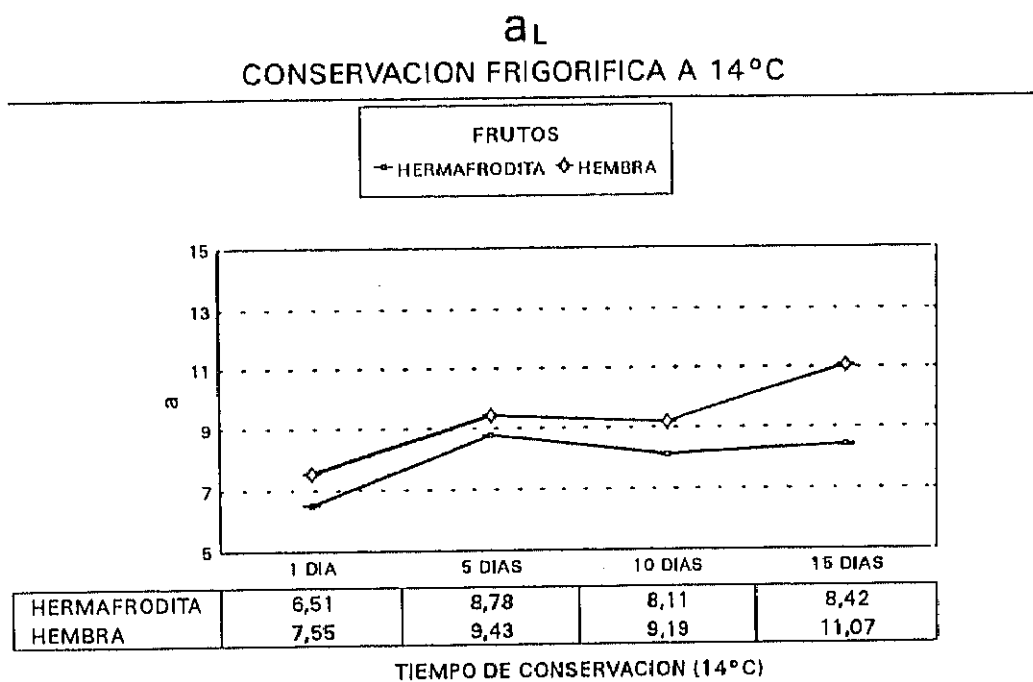


Figura 66: Determinación del parámetro a_L durante la conservación frigorífica (14°C).

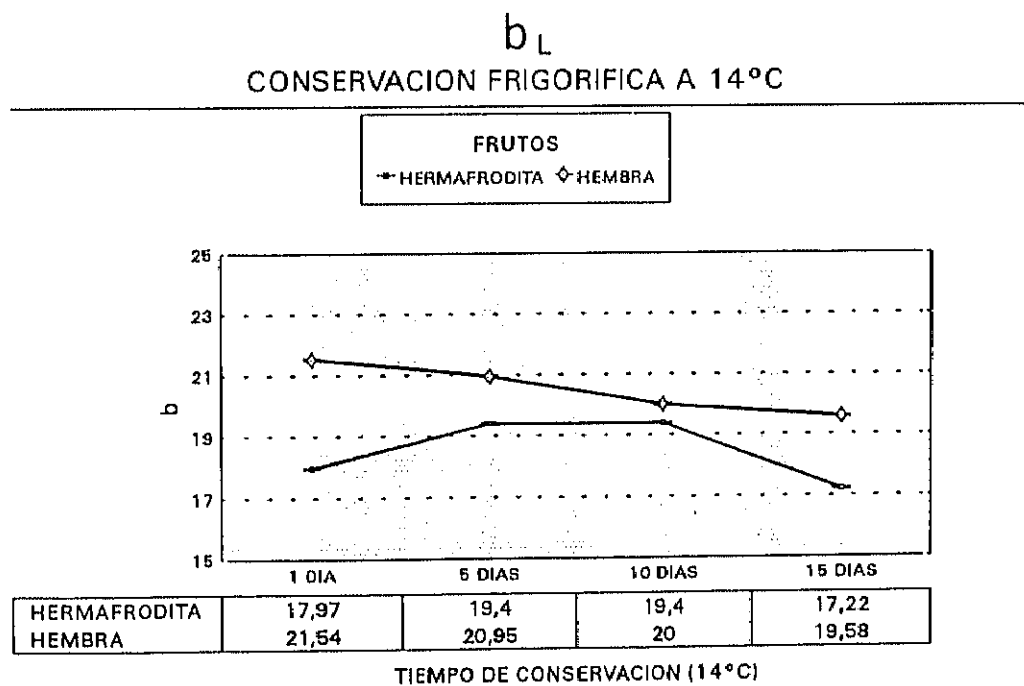


Figura 67: Determinación del parámetro b_L durante la conservación frigorífica (14°C).

* Efecto del proceso de congelación.

Los parámetros L y b_L de las rodajas de papaya hermafrodita control fueron estadísticamente menores que los de los frutos hembra, por el contrario, el parámetro a_L es significativamente mayor, Tabla 14 (anexo).

Tras el proceso de congelación, los parámetros L y b_L de las rodajas de papaya hermafrodita disminuyen, mientras que a_L no se modifica. En las rodajas de papaya hembra, los parámetros L y b_L no sufren diferencias estadísticamente significativas respecto al control, mientras que a_L aumenta considerablemente (19,53%). Estos tres parámetros son estadísticamente significativos si comparamos ambos frutos entre sí.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

En las rodajas de papaya hermafrodita conservadas en estado congelado se observa que el único parámetro en el que no se producen diferencias significativas es el a_L , mientras que L y b_L sufren fluctuaciones, alcanzando

la mayor luminosidad a los 6 meses de conservación, al igual que la mayor intensidad del color amarillo, Figura 68 y 70.

En las rodajas de papaya hembra, se producen fluctuaciones en los tres parámetros siendo el b_L en el que se producen menos diferencias significativas. El máximo valor de b_L se produce a los 6 meses de conservación y es precisamente el que origina las diferencias significativas. Hay que hacer notar que no existe diferencia significativa en este parámetro entre el control y los 12 meses de conservación. El parámetro L se hace igualmente máximo a los 6 meses de conservación ($L=36,45$), y el valor alcanzado a los 12 meses de conservación no es estadísticamente significativo respecto al control y al producto recién congelado. El parámetro a_L sufre una disminución (33,45%), estadísticamente significativa, a los 3 meses de conservación que continúa a los 6 meses. Estas muestras presentaron al final de la conservación (12 meses) valores cercanos a los observados en el fruto fresco, Figura 69.

La evolución de estos parámetros durante la conservación en estado congelado no fue estadísticamente diferente entre los frutos hermafroditas y hembras.

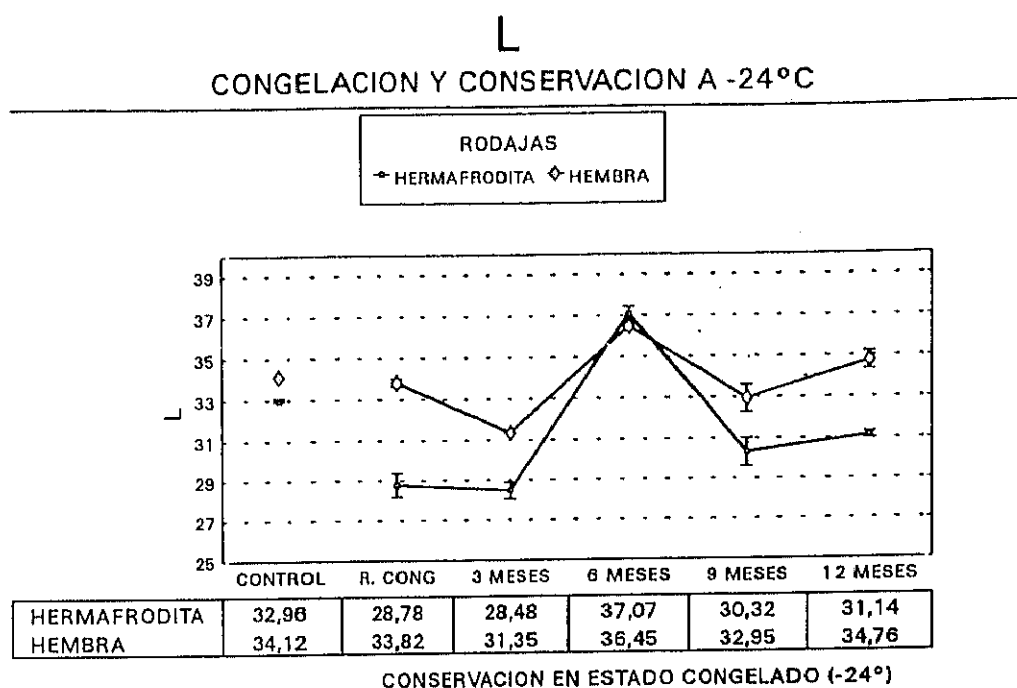


Figura 68: Determinación del parámetro L durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

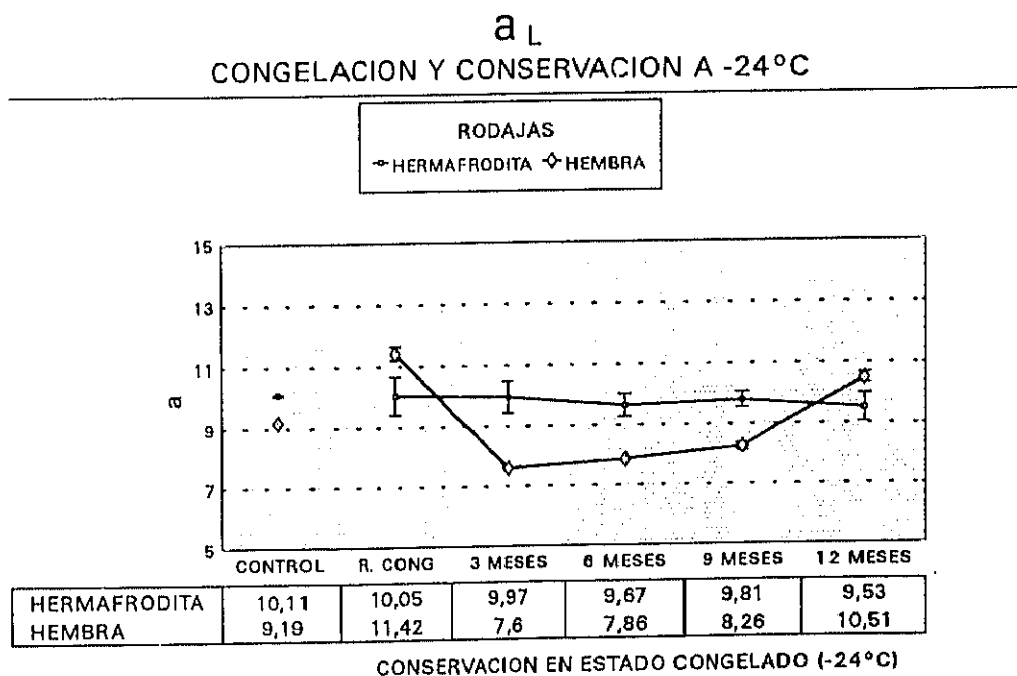


Figura 69: Determinación del parámetro a_L durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

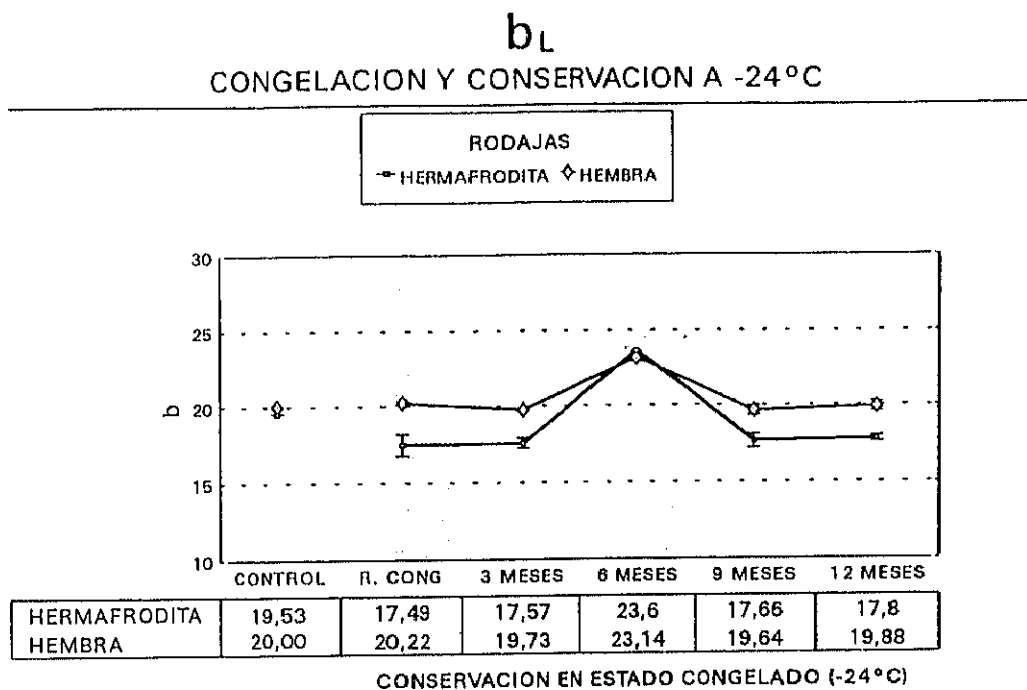


Figura 70: Determinación del parámetro b_L durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

4.3.1.2.2. Análisis sensorial del color.

4.3.1.2.2.1. Aceptabilidad del color.

Los resultados referentes a la aceptabilidad del color de las rodajas de papaya hermafroditas y hembras que realiza el panel de catadores, se muestra

en la Figura 71.

* Efecto del proceso de congelación.

Las calificaciones de color otorgadas por el panel de catadores no fueron significativamente diferentes tanto para las rodajas de papaya control como para las recién congeladas.

Los panelistas observaron diferencias marginalmente significativas ($p=0,0947$) en el color de las rodajas hermafroditas y hembras antes de ser sometidas al proceso de congelación, calificándolas como aceptables (7,7 y 6,8, respectivamente). Sin embargo, esta diferencia deja de ser significativa en las rodajas de papaya recién congeladas (7,1 y 6,9), Tabla 16 (anexo).

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

Los catadores observaron diferencias significativas en el color de las

rodajas de papaya hermafrodita a lo largo de la conservación a -24°C . A los 9 y 12 meses de almacenamiento se producen cambios en el color que fueron detectados por el panel de catadores disminuyendo significativamente la aceptabilidad del color en un 12,68% en las rodajas conservadas 9 meses a -24°C y en el mismo porcentaje las conservadas durante 12 meses. A los 6 meses de conservación en estado congelado es cuando la calificación sobre la aceptabilidad del color es más alta (8,0), siendo denominada como aceptable, Figura 71.

Sin embargo, en las rodajas de papaya hembra conservadas en estado congelado, los catadores no observaron diferencias significativas, siendo la calificación mayor a los 3 y 6 meses de conservación (7,2 y 7,1 respectivamente), es decir, aceptable.

Los catadores sólo observaron diferencias significativas en la aceptabilidad del color a los 6 meses de conservación de ambos frutos, hermafroditas y hembras.

ACEPTABILIDAD DEL COLOR

RODAJAS DE PAPAYA

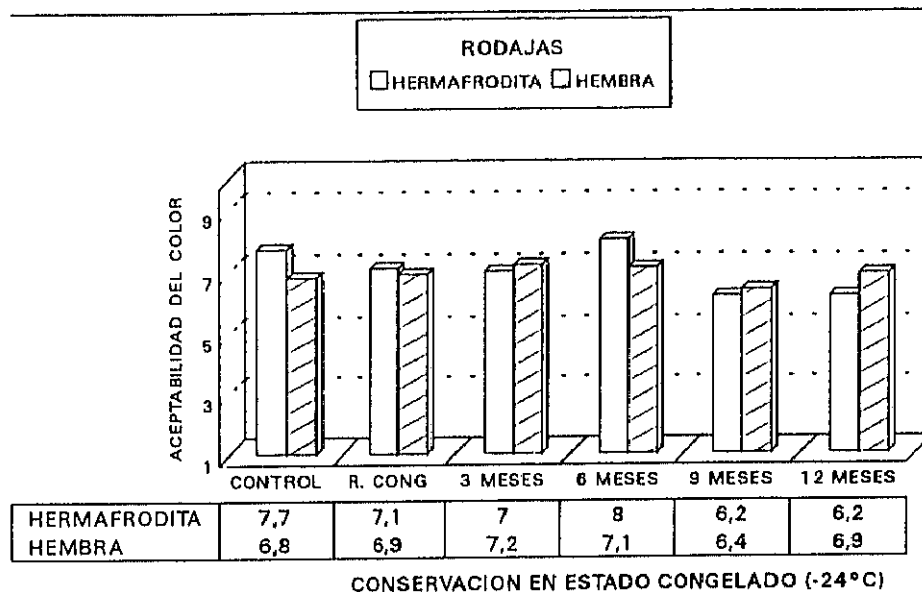


Figura 71: Análisis sensorial: Aceptabilidad del color en rodajas de papaya.

4.3.1.2.2.2. Análisis descriptivo del color.

En cuanto a la prueba descriptiva del color, los catadores determinaron si el color que predominaba era el naranja pálido, naranja brillante o naranja pardo en las muestras antes de ser sometidas al proceso de congelación y su posterior conservación a -24°C.

*** Efecto del proceso de congelación.**

El color mayoritariamente observado por el cuadro de catadores en las rodajas control, antes de ser sometidas al proceso de congelación, fue naranja brillante en las hermafroditas y naranja pálido en las hembras. El color asignado por los catadores depende del sexo del fruto con un valor significativo $p=0,0041$, Tabla 17 (anexo).

Los catadores apreciaron una transformación del color de las rodajas hermafroditas y hembras sometidas al proceso de congelación, resultando color naranja pálido en las hermafroditas y naranja brillante en las hembras. Por lo tanto, el panel de catadores fue capaz de distinguir las muestras hermafroditas de las hembras con una significación $p=0,00028$, Figura 72.

*** Evolución durante la conservación en estado de congelado.**

En las rodajas de papaya hermafrodita y hembra conservadas en estado congelado, los catadores asignan mayoritariamente el color naranja brillante, siendo por tanto el color independiente del sexo. Sin embargo, a los 12 meses de conservación el 50% de los catadores observa un color naranja pardo en las

muestras hermafroditas congeladas a -24°C , no así en las hembras en las que el 90% seguía percibiendo el color naranja brillante. El color asignado por el cuadro de panelistas depende del sexo a los 12 meses de conservación de las rodajas de papaya en estado congelado, Figura 72.

ANÁLISIS DESCRIPTIVO DEL COLOR

Rodajas de papaya

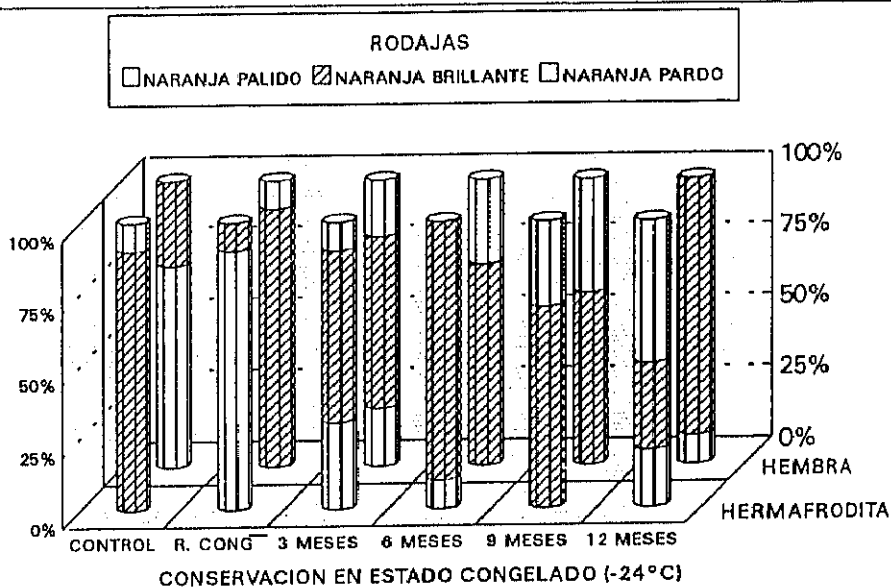


Figura 72: Análisis sensorial: Análisis descriptivo del color en rodajas de papaya.

4.3.1.2.3. Discusión de los resultados.

Los valores instrumentales de color coinciden con el análisis descriptivo realizado por los catadores pues antes de realizar la congelación, las rodajas

hembras presentaban una luminosidad (L) mayor, un valor de (b_L) inclinación hacia el color amarillo, más elevado, así como un menor valor de (a_L) tendencia al color rojo. Los panelistas en su mayoría eligieron el color naranja pálido para describir dichas muestras. Sin embargo, las muestras hermafroditas fueron calificadas como de color naranja brillante por la mayoría de los catadores, lo que podría deberse a un menor valor de (L) y (b_L), y un mayor valor de (a_L).

Los catadores calificaron las rodajas de papaya hermafrodita recién congeladas como de color naranja pálido y ligeramente menos aceptables que las evaluadas antes de ser sometidas al proceso de congelación, lo que podría ser debido a que este proceso origina una disminución de los parámetros de color determinados en el Hunter-Lab (L , a_L y b_L). Sin embargo, las muestras hembras no pierden apenas luminosidad (L), ni (b_L), y ganan tendencia al color rojo (a_L). Este hecho coincide con el color naranja brillante asignado por los panelistas, sin que apenas se modifique la aceptabilidad.

A los 3 meses de conservación, las muestras hermafroditas, vuelven a ser calificadas por la mayoría de los panelistas como de color naranja brillante al igual que las hembras, y la aceptabilidad de las dos muestras es

prácticamente la misma (7 y 7,2, respectivamente) lo que podría ser debido a que los catadores no detectan diferencias entre las muestras después de ser almacenadas durante 3 meses a -24°C aunque existen diferencias extremadamente significativas entre los parámetros L , a_L y b_L de las rodajas de papaya de ambos sexos.

A los 6 meses de conservación en estado congelado, se observa que tanto en las rodajas hermafroditas como en las hembras se produce un aumento de la luminosidad (L) y del componente amarillo (b_L), mientras que disminuye el componente rojizo hacia verde (a_L) lo que origina un mayor valor de Hue, del coeficiente de saturación y del ΔE , Tabla 15 (anexo), que podrían contribuir a que sea en ese momento de la conservación en estado congelado cuando mayor es la aceptabilidad del producto. Además este hecho podría relacionarse, en las muestras hembras, con la menor actividad de PPO observada a lo largo del estudio de conservación en estado congelado, siendo esta actividad aún menor en las rodajas hermafroditas ($8,82\Delta\text{DO}/\text{min}/\text{mg prot ext}$ y $6,48\Delta\text{DO}/\text{min}/\text{mg prot extraída}$, respectivamente). En dicho momento de la conservación, 6 meses, los catadores califican tanto las muestras hermafroditas como hembras como de color naranja brillante, aunque existe un porcentaje relativamente alto que califica las muestras hembras como naranja pardo, lo que podría ser debido a que estas muestras tienen mayor

actividad PPO que las hermafroditas.

A los 9 meses de conservación, la descripción del color asignada por los panelistas coincide con la de los 6 meses de conservación, pero tanto en las muestras hermafroditas como hembras hay un incremento en el porcentaje de catadores que opina que la coloración predominante en las rodajas es la naranja parda. Este fenómeno podría estar relacionado con un aumento en las actividades (POD y PPO) en las rodajas de papaya hermafrodita y hembra conservadas a -24°C . Además, este hecho podría ser el responsable de que la aceptabilidad sea menor en ambas muestras.

Por el contrario, las muestras hembras conservadas durante 12 meses a -24°C , tienen la misma aceptabilidad en cuanto al color que las recién congeladas, siendo el color naranja brillante el más seleccionado por los catadores, lo que podría ser debido a un aumento de L , a_L y b_L respecto a los obtenidos a los 9 meses de conservación. Por el contrario este aumento no se produce en las muestras hermafroditas de ahí que exista mayor dispersión en la calificación del color predominando el naranja pardo, lo que conduce a una menor aceptabilidad del producto.

4.3.1.3. SABOR.

El sabor de los alimentos es percibido a través de las papilas gustativas situadas en la cavidad bucal. Sin embargo, la sensación de sabor es, en realidad, un compendio de información compleja y superpuesta, que puede provenir de otros sentidos. Así, según Plattig (1984), es muy difícil el análisis sensorial del sabor, aislado por ejemplo del olfato.

4.3.1.3.1. Análisis sensorial del sabor.

4.3.1.3.1.1. Aceptabilidad del sabor.

La aceptabilidad del sabor de las rodajas de papaya hermafrodita y hembra, se muestran en la Figura 73.

*** Efecto del proceso de congelación.**

La aceptabilidad del sabor de los trozos de papaya hermafrodita y

hembra, antes de ser sometidos al proceso de congelación, no es significativamente diferente siendo 7,9 y 7,7 respectivamente, calificándose como aceptable, Tablas 22 (anexo).

El proceso de congelación no provoca cambios significativos en la aceptabilidad del sabor tanto de las rodajas de papaya hermafrodita como hembra conservadas a -24°C .

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

La aceptabilidad del sabor en los trozos de papaya hermafrodita, disminuyó de forma continua durante la conservación en estado congelado, siendo valorados a los 12 meses de conservación como poco aceptables con una puntuación de 5,2, Figura 73.

En los trozos procedentes de frutos hembras, se produjo una disminución estadísticamente significativa a los 9 meses de conservación a -24°C (38,02%). No obstante, a los 12 meses de conservación la aceptabilidad del sabor fue de poco aceptable 6,0.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la

aceptabilidad del sabor entre los trozos de papayas hermafroditas y hembras a lo largo de la conservación en estado congelado.

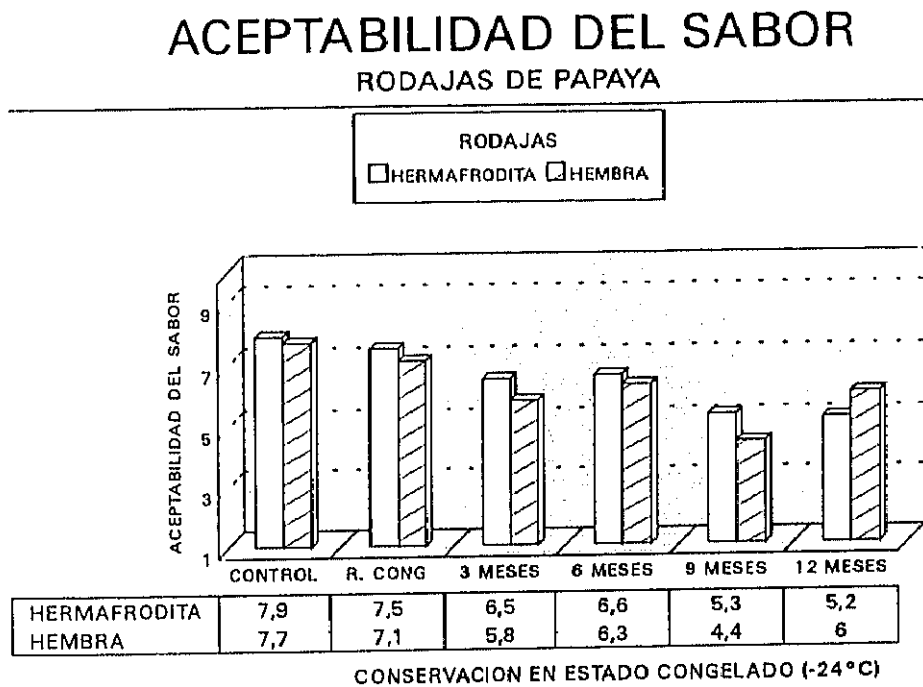


Figura 73: Análisis sensorial: Aceptabilidad del sabor en rodajas de papaya.

4.3.1.3.1.2. Análisis descriptivo del sabor.

Dado que la papaya es una fruta poco ácida, los catadores debían degustar las muestras objeto de estudio, y calificarlas como poco dulces,

dulces o muy dulces.

* Efecto de proceso de congelación.

El 70% de los panelistas, determinaron que las rodajas de papaya hermafrodita antes de ser congeladas eran dulces y el otro 30% muy dulces, mientras que, en las hembras el 30% opinó que eran poco dulces, el 50% que eran dulces y el 20% muy dulces. Esta distribución muestra una independencia entre el sabor asignado por los catadores y el sexo de los frutos de papaya, Tabla 17 (anexo).

El proceso de congelación provoca una dispersión de la valoración del sabor opinando el 40% de los catadores que el sabor de las rodajas de papaya hermafrodita recién congeladas eran poco dulces, el 20% que eran dulces y el otro 40% que eran muy dulces. Sin embargo el 70% de los catadores opinó que las rodajas procedentes de papayas hembras recién congeladas eran dulces y el 30% muy dulces. En este caso el sabor resultó ser estadísticamente dependiente del sexo de los frutos ($p=0,0314$).

* Evolución durante la congelación en estado congelado.

A los 3 meses de conservación a -24°C , el 70% de los catadores coincide en que el sabor predominante en las rodajas de papaya hermafrodita es el dulce, mientras que en las rodajas hembras es el poco dulce (60%). Por lo tanto, el sabor asignado por los panelistas es dependiente del sexo del fruto con un valor significativo de $p=0,0024$.

A los 6 meses de conservación a -24°C , el cuadro de catadores detectó un incremento en el dulzor de las muestras tanto hermafroditas como hembras, Figura 74, siendo esta distribución independiente del sexo.

Sin embargo a los 9 y 12 meses opinaron en su mayoría que las rodajas de papaya hermafrodita eran poco dulces (60% y 70%, respectivamente). En las rodajas de frutos hembras conservadas en estado congelado, los panelistas calificaron las muestras como poco dulces (60%) a los 9 meses de conservación a -24°C y entre poco dulces (40%) y dulces (50%) a los 12 meses. Por tanto, el sabor y el sexo resultaron ser estadísticamente independientes a los 9 y 12 meses de conservación a -24°C , Tabla 17 (anexo).

ANÁLISIS DESCRIPTIVO DEL SABOR

RODAJAS DE PAPAYA

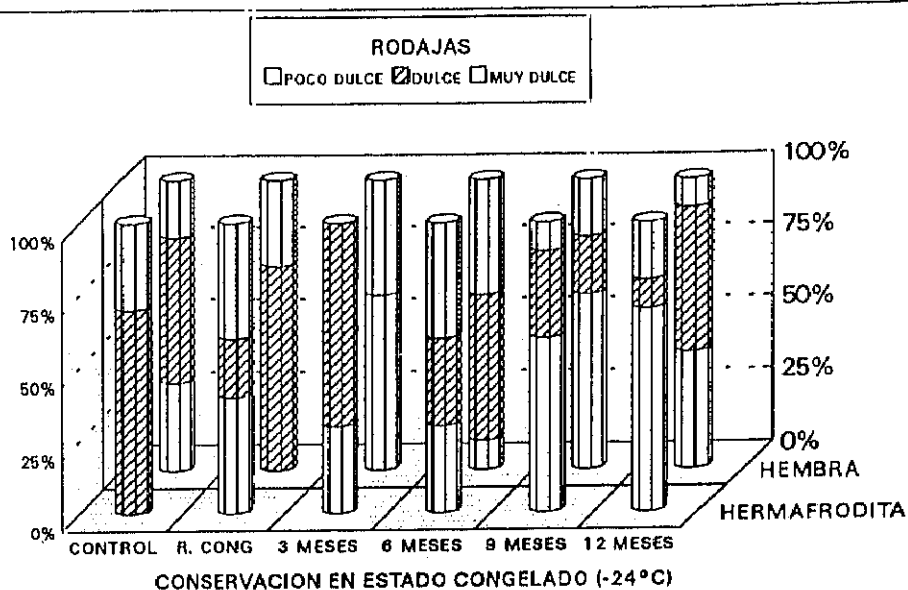


Figura 74: Análisis sensorial: Análisis descriptivo del sabor en rodajas de papaya.

4.3.1.3.2. Discusión de los resultados.

Cuando se estudia la aceptabilidad de las muestras hermafroditas y hembras no se observan diferencias significativas entre ambos sexos, lo que nos indica que los catadores no son capaces de detectar diferencias entre

ambas muestras antes del proceso de congelación, después del mismo y a lo largo de la conservación en estado congelado.

Al analizar los catadores las rodajas de papaya hermafrodita y hembra antes de ser sometidas al proceso de congelación, su aceptabilidad coincide, pero califican las muestras hermafroditas como más dulces lo que podría ser debido a un mayor contenido en azúcares solubles.

Sin embargo, cuando se realiza el proceso de congelación, aunque la disminución en la aceptabilidad no es significativa, el sabor de las muestras hembras supera en dulzor al de las muestras hermafroditas lo que coincide con un ligero aumento en el contenido en sólidos solubles.

A lo largo de la conservación de las muestras hermafroditas y hembras en estado congelado, se observa un aumento de la evaluación del nivel poco dulce por parte de los catadores así como una disminución en su aceptabilidad. Esto podría ser debido a que a medida que avanza el almacenamiento de los productos congelados, se produce el desarrollo de sabores y aromas que pueden enmascarar el dulzor de las muestras. Además, se observa una tendencia en alza del índice de calidad (Azúcares/ácidos), Tabla 15 (anexo), a partir del 3^{er} mes de conservación en las muestras hermafroditas y desde el

6º mes en las hembras, hasta los 12 meses de conservación debido principalmente a una disminución en los valores de acidez titulable, y una disminución de los valores de pH. Además, a los 3 meses de conservación en las rodajas hermafroditas y desde el proceso de congelación en las hembras, se observa un incremento de la actividad POD y PPO que podría conducir a la formación de colores y sabores desagradables (Whitaker, 1985).

4.3.2. POSTRES.

La elaboración de postres a partir de rodajas de papaya conservadas en estado congelado tenía como objetivo el determinar si este preparado enmascaraba las posibles alteraciones de color, sabor y textura que pudieran desarrollarse en el producto durante el almacenamiento. Se realizó un análisis organoléptico de la muestra preparando un postre típico de las zonas donde más se consume la papaya (Canarias, Méjico, Venezuela...). Este postre consiste en una mezcla de papaya, zumos de naranja y limón y azúcar. La posibilidad de que este postre pudiera ser de interés para la industria alimentaria, nos llevó igualmente a la realización de este análisis.

4.3.2.1. ANALISIS SENSORIAL DE LA TEXTURA.

4.3.2.1.1. Aceptabilidad de la textura.

Los resultados referentes a la aceptabilidad de la textura de los postres obtenidos a partir de rodajas de papaya hermafrodita y hembra, se muestran en la Figura 75.

*** Efecto del proceso de congelación.**

En el postre obtenido a partir de las rodajas de papaya hermafroditas y hembras, antes de ser sometidas al proceso de congelación, no se producen diferencias significativas en la aceptabilidad de la textura, siendo ligeramente más aceptable el postre de rodajas hembras (7,8 y 7,7) que fue calificado como aceptable, Tabla 16 (anexo).

El proceso de congelación no provoca diferencias significativas en la aceptabilidad del postre hermafrodita o hembra. Tampoco se detectan diferencias estadísticamente significativas entre los postres obtenidos a partir de rodajas de frutos hermafroditas recién congeladas o de frutos hembras (7,8 y 7,9 respectivamente). Estos postres fueron calificados como aceptables por

el panel de catadores, Fig 75.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

En los postres obtenidos a partir de rodajas de frutos hermafroditas, se produce una disminución estadísticamente significativa de la aceptabilidad de la textura a los 9 y 12 meses de conservación (10,25% y 16,66%, respectivamente), Figura 75.

En los postres obtenidos de rodajas de papaya hembra, no se observaron diferencias significativas a lo largo de la conservación en estado congelado, siendo calificados en todo momento como aceptables, Tabla 16 (anexo).

La aceptabilidad de la textura de postres hermafroditas y hembras fue estadísticamente significativa a los 9 meses de conservación, siendo más aceptable la textura del postre obtenido a partir de frutos hembras desde el 3^{er} mes de conservación hasta el final de la conservación en estado congelado.

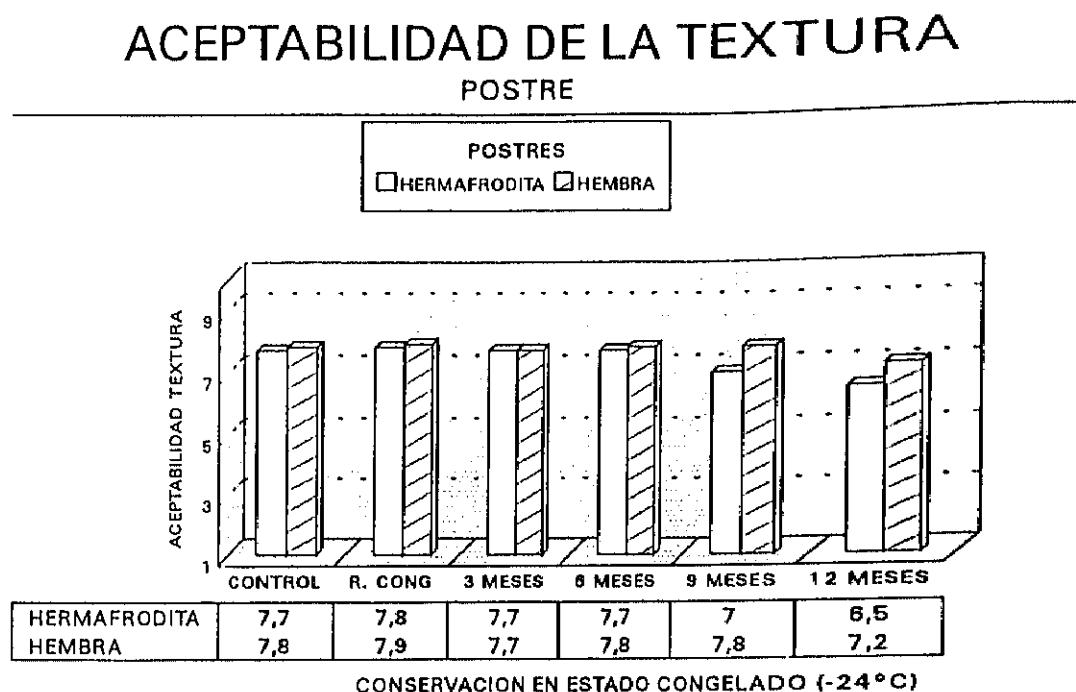


Figura 75: Análisis sensorial: Aceptabilidad de la textura en postres de papaya.

4.3.2.1.2. Análisis descriptivo de la firmeza.

El cuadro de panelistas evaluó la firmeza de las muestras calificando los postres como blandos, ligeramente firmes y firmes. Describir la firmeza de un postre (puré), no una tarea fácil, pero este apartado se ha incluido para que siguiera una analogía con el análisis descriptivo de la firmeza de las rodajas de papaya.

* Efecto del proceso de congelación.

Los catadores calificaron mayoritariamente los postres obtenidos a partir de rodajas de papaya antes y después del proceso de congelación, como blandos. Por lo tanto en ambos casos la textura y el sexo del fruto eran dos variables independientes, Figura 76.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

En los postres procedentes de rodajas de papaya conservadas en estado congelado, se observa que la calificación mayoritaria asignada por los catadores, a lo largo de la conservación, fue la de blandos tanto para las muestras hermafroditas como para las hembras. Sin embargo, puede observarse a los 6 y 9 meses, existe un porcentaje de catadores que detecta algo más de firmeza. A los 12 meses el 90% de los catadores evalúa la textura de los postres de rodajas hermafroditas y hembras como blandos. En ningún período de conservación la textura asignada por los catadores fue dependiente del sexo de las rodajas de los frutos, Tabla 18 (anexo).

ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA FIRMEZA POSTRE

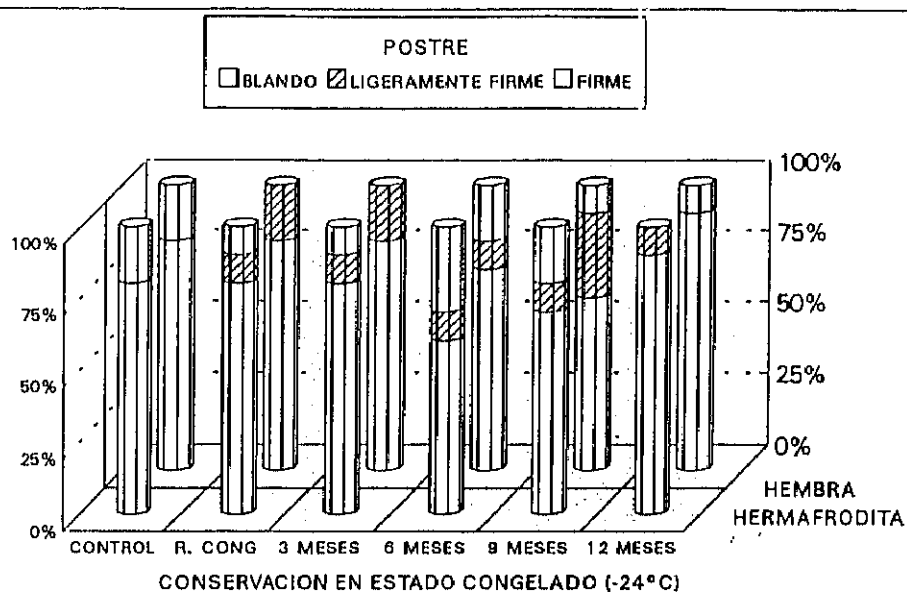


Figura 76: Análisis sensorial: Análisis descriptivo de la textura en postres de papaya.

4.3.2.1.3. Discusión de los resultados.

La apreciación de la textura de los postres de papaya hermafrodita y hembra, fue muy parecida en las muestras analizadas antes y después del

proceso de congelación oscilando alrededor de 7,7 en las muestras hermafroditas y 7,8 en las hembras. Sin embargo, los catadores detectan una pérdida en la textura de las muestras hermafroditas a los 9 y 12 meses de conservación a -24°C, manifestada por un mayor porcentaje de panelistas que avalúan los postres como blandos, así como una calificación menor de la aceptabilidad de los mismos. Los postres de las muestras hembras sufrieron igualmente a los 12 meses de conservación una pérdida de calidad y un aumento en el número de catadores que califican las muestras como blandas. Este hecho podría ser debido a que el contenido más bajo en pectinas en ambos frutos se produce a los 12 meses de conservación en estado congelado, posiblemente por la actuación de la pectinmetilesterasa que origina geles que pueden modificar la textura final del postre.

Los datos obtenidos en la textura de los postres no se han comparado con los de las rodajas, porque los postres se obtienen a partir de un homogeneizado de las rodajas de papaya con otros componentes como zumos de naranja, limón y azúcar.

4.3.2.2. ANALISIS SENSORIAL DEL COLOR.

4.3.2.2.1. Aceptabilidad del color.

Los catadores evaluaron la aceptabilidad del color de los postres según se muestra en la Figura 77.

*** Efecto del proceso de congelación.**

En el postre preparado según el apartado de materiales y métodos, no se determinaron diferencias estadísticamente significativas entre el elaborado a partir de rodajas hermafroditas y el de rodajas hembras. Tampoco se observaron diferencias entre las muestras control y las recién congeladas.

En el postre de rodajas de papaya hermafrodita se produce una diferencia marginalmente significativa entre las rodajas congeladas 6 meses y las almacenadas durante 9 y 12 meses ($P=0,0868$ y $P=0,0662$, respectivamente), disminuyendo la aceptabilidad del color en un 7,31% y 3,65% en las rodajas hermafroditas, Tabla 16 (anexo).

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

A lo largo de la conservación en estado congelado no se observaron diferencias significativas en la aceptabilidad del color tanto en el postre realizado a partir de rodajas de papaya hermafrodita como en el hembra, Figura 77.

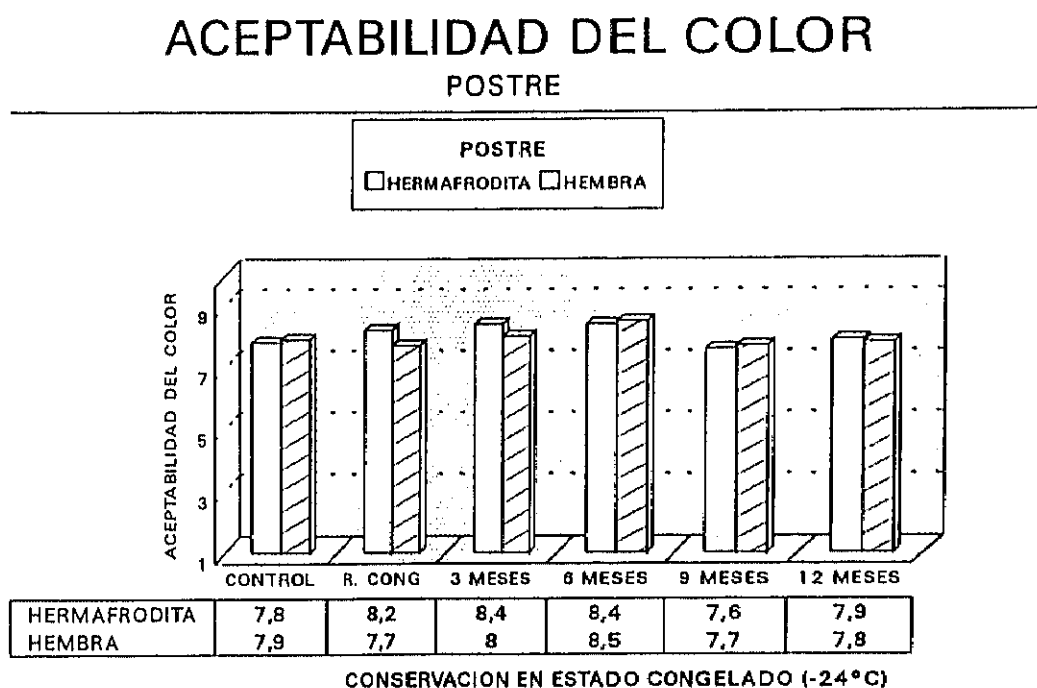


Figura 77: Análisis sensorial: Aceptabilidad del color en postres de papaya.

4.3.2.2.2. Análisis descriptivo del color.

En la prueba descriptiva del color, los catadores determinaron si el

color predominante en los postres era el naranja pálido, el naranja brillante o el naranja pardo.

** Efecto del proceso de congelación.*

En el postre procedente de rodajas control de papaya hermafrodita, los catadores observaron mayoritariamente el color naranja brillante mientras que en las que procedían de frutos hembras no existía un color mayoritario, sino una dispersión entre el color naranja pálido y el brillante. Por lo tanto, la descripción del color por parte de los catadores es dependiente del sexo con un valor significativo ($p=0,0214$), Figura 78.

En el postre obtenido a partir de rodajas de papaya hermafrodita sometidas al proceso de congelación, los catadores detectan el mismo color que en las muestras control, mientras que en el hembra, se produce un reagrupamiento en el color naranja brillante. Este hecho origina que el color asignado por los panelistas, sea independiente del sexo.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

A lo largo de la conservación en estado congelado, la apreciación del color de los catadores en las distintas muestras de los postres obtenidos a partir de rodajas de papaya conservadas en estado congelado, fue prácticamente la misma que la asignada en los postres obtenidos a partir de rodajas de papaya recién congelada. A todas las muestras les fue asignado mayoritariamente el color naranja brillante.

ANÁLISIS DESCRIPTIVO DEL COLOR
POSTRE

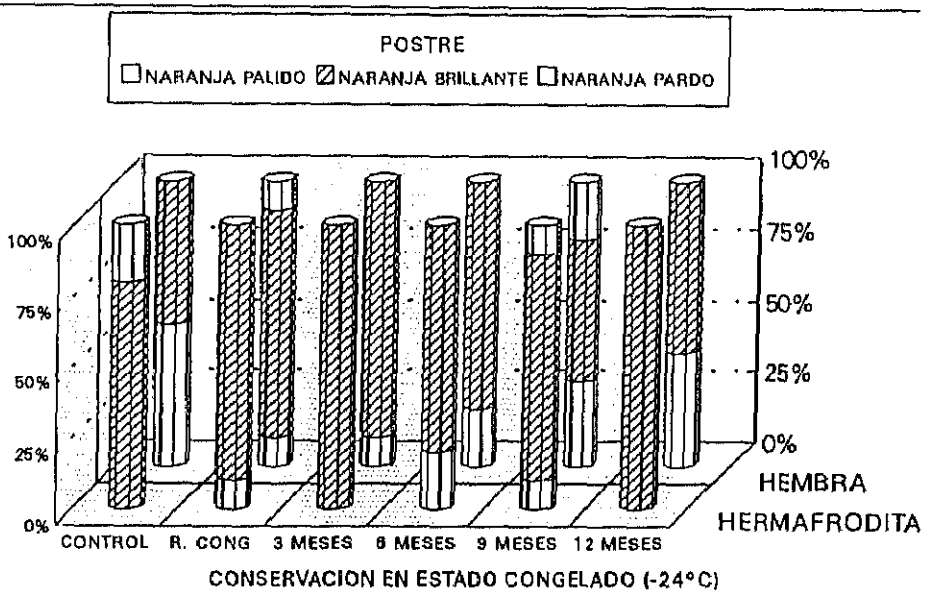


Figura 78: Análisis sensorial: Análisis descriptivo del color en postres de papaya.

4.3.2.2.3. Discusión de los resultados.

En los postres realizados a partir de rodajas de papaya hermafrodita, el color mayoritariamente observado por los catadores fue el naranja brillante sin que fueran capaces de detectar cambios debidos al proceso de congelación o al almacenamiento en estado congelado. La aceptabilidad de las muestras osciló entre 7,6 y 8,4. Tan sólo se observa una diferencia marginalmente significativa en la aceptabilidad de las muestras hermafroditas conservadas durante 9 meses a -24°C y las conservadas durante 12 meses. Este fenómeno puede deberse a que a los 9 meses de conservación en estado congelado, las rodajas de papaya hermafroditas presentan una actividad de PPO muy elevada que se manifestaría con un color pardo que debido a la presencia de zumo de naranja y limón para elaborar el postre, quedaría enmascarado siendo tan sólo detectado este color parduzco por el 10% de los catadores.

En los postres elaborados a partir de frutos hembras, la aceptabilidad del color osciló entre 7,7 y 8,5, sin que existieran diferencias significativas entre estos valores. Sin embargo, mientras que en los postres obtenidos a partir de las rodajas antes de ser sometidas al proceso de congelación el color elegido por el 50% de los catadores fue el naranja pálido, en los postres en los que ya había sido realizado el proceso de congelación la mayoría de los

catadores seleccionaron el color naranja brillante. Es de destacar que al final de la conservación en estado congelado, 6, 9 y 12 meses, existe un porcentaje cada vez mayor de panelistas que eligió el color naranja pálido. Además, a los 9 meses de conservación en los postres obtenidos a partir de rodajas de papaya hembra, un 20% de los catadores detectaron una coloración naranja parda debida posiblemente a una mayor actividad de las enzimas POD y PPO. El incremento progresivo de catadores que seleccionaron como color del postre el naranja pálido, sin llegar a ser la elección mayoritaria, podría ser debido a la utilización de zumos de naranja y limón que enmascaren el color brillante. Además, al comparar este postre de manera indirecta con el procedente de frutos hermafroditas, podemos destacar que algunos panelistas, detectaron que presentaba un color menos intenso y por tanto lo evaluaron como naranja pálido.

4.3.2.3. ANALISIS SENSORIAL DEL SABOR.

4.3.2.3.1. Aceptabilidad del sabor.

La aceptabilidad del sabor de los postres se muestra en la Figura 79.

* Efecto del proceso de congelación.

En el postre elaborado a partir de rodajas de papayas hermafroditas y hembras se observa que la aceptabilidad del sabor es marginalmente significativa ($P=0,0868$), siendo puntuados con 8,8 y 8,0, respectivamente, Tabla 16 (anexo).

El postre procedente de rodajas de papayas hermafroditas recién congeladas no tenía diferencias estadísticamente significativas con el postre control. Este mismo hecho, ocurría con el obtenido a partir de rodajas de papayas hembras.

La aceptabilidad del sabor de los postres obtenidos a partir de rodajas de frutos hermafroditas y hembras recién congeladas, no fue significativamente diferente.

* Evolución durante la conservación en estado congelado.

En cuanto a los postres obtenidos a partir de rodajas de frutos hermafroditas y hembras no se observaron diferencias estadísticamente

significativas durante su almacenamiento a -24°C . Sin embargo, la aceptabilidad fue durante todo el almacenamiento superior en los purés obtenidos a partir de papayas hembras, salvo a los 3 meses de conservación a -24°C , Figura 79.

Asimismo, tampoco se observaron diferencias significativas entre los postres obtenidos a partir de ambos frutos a lo largo de la conservación en estado congelado.

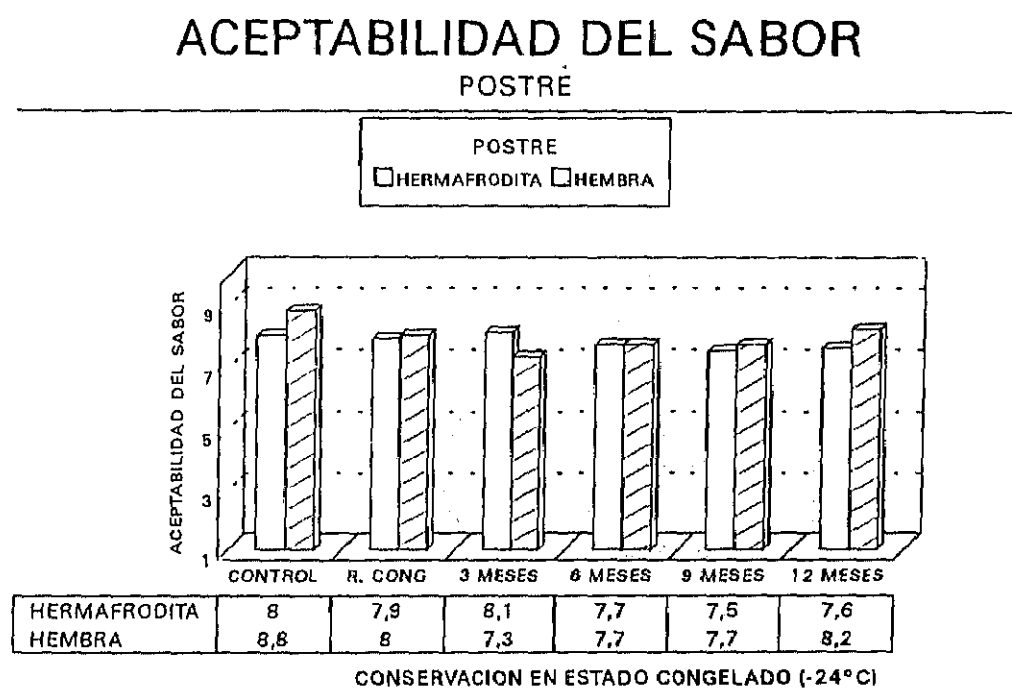


Figura 79: Análisis sensorial: Aceptabilidad del sabor en postres de papaya.

4.3.2.3.2. Análisis descriptivo del sabor.

La apreciación del sabor de los postres se muestra en la Figura 80.

*** Efecto del proceso de congelación.**

En los postres de papaya procedentes de frutos hermafroditas antes de ser sometidos al proceso de congelación, existió una amplia distribución de la valoración del sabor (20% poco dulce, 40% dulce y 40% muy dulce). Por el contrario en los postres realizados a partir de frutos hembras, resultó mayoritariamente la respuesta "poco dulce". El análisis estadístico de la frecuencia entre el sabor y el sexo del fruto resultó ser independiente.

Los panelistas detectaron mayoritariamente en los postres realizados a partir de rodajas de frutos hermafroditas y hembras un sabor muy dulce, siendo por tanto la elección de este sabor independiente del sexo.

*** Evolución durante la conservación en estado congelado.**

En cuanto a los postres obtenidos a partir de rodajas de papaya hermafrodita y hembra conservadas durante 3 meses en estado congelado, los panelistas coincidieron en que el sabor mayoritario era el poco dulce (50% en ambos casos), Figura 80. Sin embargo, a partir del 6º mes de conservación,

el sabor asignado tanto para la muestras hermafroditas como hembras fue el de "dulce". El sabor asignado por los catadores a partir del 3^{er} mes de conservación en estado congelado era independiente del sexo, Tabla 18 (anexo).

ANÁLISIS DESCRIPTIVO DEL SABOR POSTRE

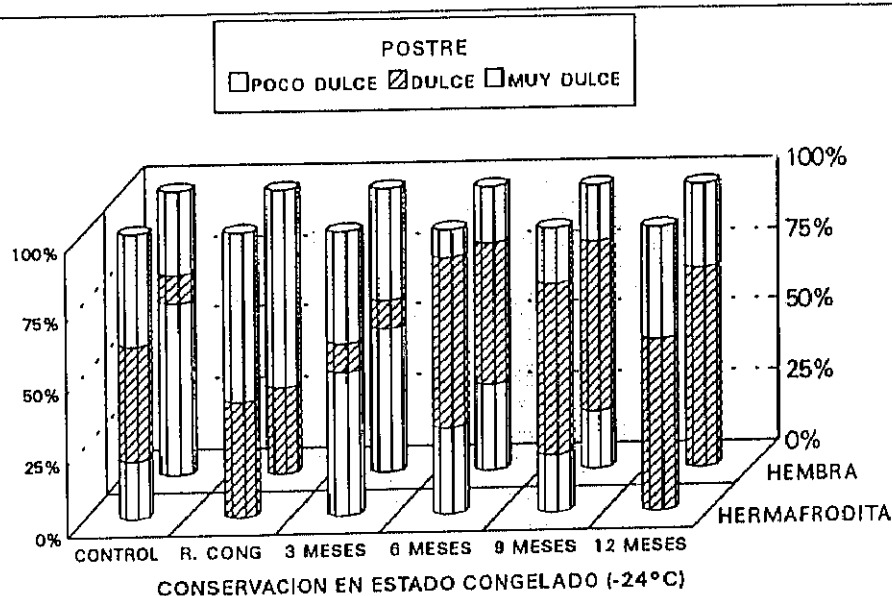


Figura 80: Análisis sensorial: Análisis descriptivo del sabor en postres de papaya.

4.3.2.3.3. Discusión de los resultados.

En los postres obtenidos a partir de rodajas de papaya hermafrodita y hembra, la aceptabilidad de los postres hembras resultó en todo momento,

ligeramente superior a la de los postres hermafroditas, a pesar de ser calificados en el grupo control como poco dulces. Los catadores dieron mayor calificación a los postres que a las rodajas de las muestras de las que procedían, posiblemente porque al estar mezcladas con otros productos (naranja, limón y azúcar) el desarrollo de sabores extraños en las rodajas quedaba más enmascarado.

En los postres obtenidos a partir de rodajas hermafroditas y hembras, antes de ser sometidas al proceso de congelación, se observa un mayor porcentaje de catadores que avalúan las muestras como poco dulces respecto a las rodajas, lo que podría ser consecuencia de la incorporación de zumo de naranja y limones a los postres.

El proceso de congelación provoca un aumento del dulzor en los postres obtenidos a partir de rodajas de papaya procedentes de frutos de ambos sexos.

Los postres obtenidos a partir de rodajas conservadas a distintos tiempos, 6, 9 y 12 meses de conservación, fueron calificados por los catadores como dulces, y como poco dulces a los 3 meses de conservación a -24°C.

5. CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en la presente investigación sobre la maduración, proceso de congelación y conservación en estado congelado de frutos de papaya (*Carica papaya*, grupo Solo, cultivar Sunrise) procedentes de flores hermafroditas y hembras, se deducen las siguientes conclusiones:

1. Del estudio de la caracterización del enzima peroxidasa en frutos de papaya hermafrodita y hembra, se puede concluir que en ambos frutos este enzima está constituido por dos especies isoenzimáticas idénticas, correspondientes a las bandas A y B ($R_f(A)=0,24$ y $R_f(B)=0,58$).
2. Por primera vez, se ha caracterizado la actividad de polifenoloxidasa en frutos de papaya hermafrodita y hembra. Este enzima, presentó una actividad o-difenil oxidasa, actuando preferentemente frente a sustratos no naturales difenoles como catecol, 4-metilcatecol y frente a un sustrato natural como es L-dopa (3,4-dihidroxifenilalanina).
3. El patrón isoenzimático de papaya hembra, del cultivar Sunrise (grupo Solo) de origen canario, está constituido por 4 bandas A, D, E y F, ($R_f(A)=0,19$, $R_f(D)=0,46$, $R_f(E)=0,55$ y $R_f(F)=0,64$, respectivamente). En el fruto hermafrodita se observó además, la existencia de otra banda catiónica ($R_f(B)=0,28$).

4. Durante la maduración de los frutos de papaya, tanto hermafroditas como hembras, no se producen cambios significativos en patrón isoenzimático de peroxidasa. Sin embargo, en el patrón isoenzimático de polifenoloxidasa de papaya hermafrodita se observa la desaparición de la banda C ($R_f(C)=0,37$) y una pérdida de intensidad de la banda B ($R_f(B)=0,28$) a medida que progresa la maduración. En los frutos hembras sólo se produce una disminución de la intensidad de las bandas más aniónicas (D, E y F).

5. Durante la conservación frigorífica a 14°C, los frutos de papaya experimentan los cambios fisiológicos y bioquímicos característicos de frutos climatéricos. El contenido en proteínas totales en frutos hermafroditas y hembras, alcanza un máximo de 7,97 y 8,91 mg de proteína extraída/g producto liofilizado en el fruto maduro. La actividad enzimática de polifenoloxidasa experimenta un máximo que coincide con el observado en el contenido en proteínas totales. Por el contrario la actividad de peroxidasa sufre una disminución progresiva durante todo el proceso de maduración.

6. Los frutos de papaya hermafrodita y hembra, presentaron un contenido total en carotenoides de 8,840 y 10,263 $\mu\text{g/g}$ de producto, respectivamente, expresados como equivalentes de β -caroteno. Se identificaron tres clases de compuestos: Xantofilas (3,94% y 6,81%), Carotenos hidrocarbonados (48,08% y 38,10%) y Esteres de xantofilas (47,99% y 55,09%, respectivamente). Entre estos compuestos el Licopeno y los ésteres de β -criptoxantina son los que en mayor proporción contribuyen al color de la pulpa del fruto y a su elevado valor nutricional (provitamina A).

7. El contenido en carotenoides totales aumenta de manera progresiva y significativa durante la maduración de los frutos de papaya. Mientras que, en los frutos preclimatéricos los niveles de carotenos son similares en los dos tipos de papayas, hermafroditas y hembras, cuando el fruto hembra alcanza la madurez, su contenido se ha incrementado un 40% más que en los frutos hermafroditas. A este hecho contribuye la mayor acumulación de β -criptoxantina y de sus ésteres así como de licopeno.
8. El patrón isoenzimático de peroxidasa de las rodajas de papaya hermafroditas y hembras congeladas se modificó a los 3 meses de congelación con la aparición de una nueva banda (C de $R_f=0,39$). Además en las muestras hermafroditas se observó la desaparición de la banda más aniónica (banda B), a partir del 6º mes de conservación a -24°C .
9. El proceso de congelación, no provoca cambios en el patrón isoenzimático de polifenoloxidasa en papaya procedente de frutos hembras. Por el contrario, en los frutos hermafroditas se produce la pérdida de la banda B ($R_f(B)=0,28$), la cual se regenera únicamente a los 3 meses de conservación a -24°C .
10. El contenido y la naturaleza de los compuestos carotenoides, en las rodajas de papaya, hermafrodita y hembra, no sufre cambios drásticos como consecuencia de la congelación y su posterior conservación en estado congelado. Sin embargo, se han observado diferencias en la evolución de estos pigmentos entre las rodajas hermafroditas y hembras. En las

muestras hembras se produjo una significativa degradación, en particular de los carotenos hidrocarbonados, licopeno y neolicopeno A que se podría atribuir a la mayor actividad enzimática de peroxidasa de estos frutos a temperaturas de conservación en estado congelado.

11. El proceso de congelación no produce por sí mismo cambios significativos en los parámetros de de calidad sensorial más comunes (color, sabor/aroma y textura) en rodajas de papaya, sí la descongelación del producto se lleva a cabo en condiciones controladas (4°C de temperaura, sin apertura del envase).
12. Durante la conservación en estado congelado, tienen lugar una serie de cambios en las características sensoriales, que se hacen más evidentes a tiempos prolongados de conservación (≥ 9 meses). Sin embargo, estos cambios de calidad (pérdida de firmeza, color más oscuro, aparición de sabores extraños) pueden quedar enmascarados si se elabora el producto descongelado antes de su consumo (elaboración de postres).

6. BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA.

A.O.A.C. (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 15th edition. Washington D.C.

ADAMS, J.B. (1978). "The inactivation of peroxidase in relation to the high temperature-short time processing of vegetables". *Lebensm. Wiss. Technol.* 11 (2), 72-80.

AHMAD, B.T. (1989). "Potential and outlook of eksotika as an export fruit". Paper presented at Seminar (MARDI-MAPPS) on eksotika papaya: prospects and problems. Holiday Inn, Johor Bahru, Malaysia, 7-8 March.

AKAMINE, E.K. y ARISUMI, T. (1953). "Control of postharvest storage decay of fruits of papaya (*Carica papaya*, L.) with special reference to the effect of hot water". *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 61, 270-274.

ALIQUE, R. y OLIVEIRA, G. (1994). "Changes in sugars and organic acids in Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) Fruit under controlled-Atmosphere storage". *J. Agric. Food Chem.* 42 (3), 799-803.

ALVAREZ, A.M. (1980). "Improved marketability of fresh papaya by shipment in hypobaric containers". *Hort. Sci.* 15 (4), 517-520.

ARGAIZ, A. (1994). "Thermal inactivation kinetics of pectinesterasa in acidified papaya nectar and purees". *Rev. Esp. Clenc. Tecnol. Aliment.* 34 (3), 301-309.

AWADA, M. y SUEHISA, R. (1973). "Nutrient removal by papaya fruit". *Hort. Sci.* 5, 182-185.

AYLWARD, F. y HAISMAN, D.R. (1969). "Oxidation Systems in fruits and vegetables-their relation to the quality of preserved products". *Adv. Food Res.* 17, 1-76

BEYERS, M., THOMAS, A.C. y VAN TONDER, C. (1979). "Gamma irradiation of subtropical fruits. 1. Compositional tables of mango, papaya, strawberry, and litchi fruits at the edible-ripe stage". *J. Agric. Food Chem.* 27 (1), 37-42.

BLAKESLEY, C.N., LOOTS, J.G., du PLESSIS, L.M. y de BRUYN, G. (1979). "Gamma irradiation of subtropical fruits.2. Volatile components, lipids and aminoacids of mango, papaya and strawberry pulp". *J. Agric. Food Chem.* 27 (1), 42-48.

BRADFORD, M. (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding". *Anal. Biochem.* 72, 248-254

BRAVERMAN, J.B.S. (1963). *Introduction to the Biochemistry of Foods*. Elsevier Publishing Co., Amsterdam. London. New York.

BREKKE, J.E., CHAN, H.T., Jr. y CAVALETTO, C.G. (1973). "Papaya puree and nectar". *Res. Bull.* 170. Hawaii Agric. Exp. Stn. Honolulu, Hawaii.

BRENNAN, J.G. (1948). Texture perception and measurement. En: *Sensory Analysis of foods*. Ed. I.R. Piggot Elsevier Applied Science Publishers.

BROWN, M.J. (1979). "Frozen fruits and vegetables. Their chemist, physics and Cryobiology". *Adv. Food Res.* 25, 181-230.

BROWN, M.J. (1977). "Texture of frozen fruits and vegetables". *J. Texture Stud.* 7, 391-404.

BURNETTE, F.S. (1977). "Peroxidase and its relationship to food flavor and quality" *J. Food Sci.* 42 (1), 1-6

BUSHWAY, R.J. y WILSON A.M. (1982). "Determination of (alfa-Beta-Carotene in Fruits and Vegetables by High Performance Liquid Chromatography" *Can. Inst. Food. Sci. Technol. J.* 15, 165-169.

CALVELO, A. (1981). *Developments in Meat Science*. Ed. R. Lawrie, Applied Science Publishers Ltd. London.

CANO, M.P. (1991). "HPLC separation of chrolophylls and Carotenoid Pigments of Four Kiwi Fruit Cultivars". *J. Agric. Food Chem.* 39, 1786-1791.

CANO M.P., GARCIA, M. y MARIN, M.A. (1991). "Changes in sugars and organic acids in Frozen Papaya". 18th International Congress of Refrigeration, Montreal, Quebec, Canada, 1813-1816.

CANO, M.P. y MARIN, M.A. (1992). "Pigment Composition and Color of Frozen and Canned Kiwi Fruit Slices". *J. Agric. Food Chem.* 40, 2141-2146.

CANO, M.P., MARIN, M.A. y FUSTER, C. (1990a). "Effects of some thermal treatments on polyphenoloxidase and Peroxidase Activities of Banana (*Musa Cavendishii*, var. *enana*). *J.Sci. Food Agric.* 51, 223-231.

CANO, M.P., MARIN, M.A. y FUSTER, C. (1990b). "Freezing of banana slices influence of maturity level and thermal treatment prior to freezing". *J. Food Sci.* 55, 1070-1072.

CANO, M.P., TORIJA, E., MARIN, M.A. y CAMARA, M. (1994). "A simple ion-exchange chromatographic determination of non-volatile organic acids in some Spanish exotic fruits". *Z Lebensm Unters Forsch* 199, 214-218.

CARRENO, R. y CHAN, H.T. Jr. (1982). "The partial purification and characterization of the acid phosphatase from papaya". *J. Food Sci.* 47, 1498-1500.

CLARKE, I.D. (1971). Effects of radiation treatments. En: *The Biochemistry of fruits and their products*. Vol. 2. Ed. A.C. Hulme, Academic Press, London y New York.

CLYDESDALE, F.M.(1984a). Color measurement. En: *Food Analysis*. Vol I. Eds. D.W. Gruenivedel, J.R. Whitaker y M. Dekker. Inc. New York y Basel.

CLYDESDALE, F.M. (1984b). Influence of Colour on sensory perception and food choices. En: *Developments in food colour-2*. Elsevier Applied Science Publishers.

COLDITZ, G.A., BRANCH, L.G., LIPNICK, R.J., WILLET, W.C., ROSNER, B., POSNER, B.M. y HENNEKENS, C.H. (1985). "Increase Green and Yellow Vegetables intake and lowered Cancer Deaths in an Elderley Population". *Am. J. Cli. Nutr.* 41, 32-36.

COSTELL, E. y DURAN, L. (1981). "El análisis sensorial en el control de calidad de los alimentos, II. Planteamiento y planificación : selección de pruebas". *Rev. Agroquim. Aliment.* 21 (2), 149-260.

COUEY, M.H. y FARIAS, G. (1979). "Control of postharvest decay of papaya". *Hort. Sci.* 14, 719-721.

CHAN, H.T., Jr. (1977). "Method for removing seeds from papayas". U.S. patent N° 4, 002, 744.

CHAN, H.T., Jr. (1983). Papaya. En: *Handbook of Tropical Foods*. Ed. H.T.Jr. Chan, New York, U.S.A.

CHAN, H.T., Jr. (1993). Passion Fruit, Papaya, and Guava Juices. En: *Fruit Juice Processing Technology*. Eds. S. Nagy, C.S. Chen, y P.E. Shaw, Agscience, Inc. Auburndale, Florida.

CHAN, H.T., Jr. y CAVALETTO, C.G. (1982). "Aseptically packaged and guava puree. Changes in chemical and sensory quality during processing and storage". *J. Food Sci.* 47, 1164-1174.

CHAN, H.T., Jr., CHANG, T.S.K., STAFFORD, A.E. y BREKKE, J.E. (1971). "Nonvolatile acids of papaya". *J. Agric. Food Chem.* 19, 263-265.

CHAN, H.T., Jr., HIBBARD, K.L., GOO, T. y AKAMINE, E.K. (1979). "Sugar composition of papaya during fruit development". *Hort. Sci.* 14, 140-141.

CHAN, H.T., Jr. y KWOK, S.C.M. (1975). "Importance of enzyme inactivation prior to extraction of sugar from papaya". *J. Food Sci.*, 40, 770-771.

CHAN, H.T., Jr. y KWOK, S.C.M. (1976). "Isolation and characterization of β -fructofuranosidase from papaya fruit" *J. Food Sci.* 43, 989-990.

CHAN, H.T., Jr. TAM, S.Y.T. y KOIDE, R.T. (1978). "Isolation and characterization of catalase from papaya". *J. Food Sci.* 43, 989-990.

CHANDLER, W.H. (1962). El papayo y el árbol de la pasión. En: *Frutales de hoja perenne*. Ed. Unión gráfica S.A. Méjico.

CHANG, L.W.S. y TANG, C.S. (1979). The Chemistry and Biochemistry of papaya. En: *Tropical Foods: Chemistry and Nutrition*. Eds. G.E. Inglett, y G. Charalambous, Academic Press, New York.

CHRISTENSEN, C.M. (1984). "Food texture perception". *Adv. Food Res.* 29, 159-199.

DAVIES, B.H. (1976). Carotenoids. En: *Chemistry and Biochemistry of plant Pigments-2*. Ed. T.W. Goodwin. Academic Press London, New York, San Francisco.

DE ARRIOLA, M.C., DE CALZADA, J.F., MENCHU, J.F., ROLZ, C. y GARCIA, R. (1980). Papaya. En: *Tropical and Subtropical Fruits*. Ed. S. Nagy, y P.E. Shaw, AVI Publishing, Westport, Conn.

DE ARRIOLA, M.C., DE MADRID, M.C. y ROLZ, C.2 (1975). "Some physical and chemical changes in papaya during its storage". *Proc. Trop. Res. Am. Soc. Hort. Sci.* 19, 97-101.

DELI, J., MATUS, Z. y SZABOLCS, J. (1992). "Carotenoid Composition in the fruits of Black Paprika (*Capsicum annuum* Variety longum nigrum) during Ripening". *J. Agric. Food Chem.* 40, 2072-2076.

DELINCÉE, H. RADOLA, J. y DRAWERT, F. (1973). "The effect of combined heat and irradiation treatment on the isoelectric and size properties of horseradish peroxidase". *Acta Aliment. Acad. Sci. Hong.* 2, 259-262.

DETHMERS, A.S. (1981). "Sensory evaluation guide for testing food and beverage products". *Food Technol.* 35 (11), 50-59.

DILLEY, D.R. (1970). Enzymes. En: *The biochemistry of Fruits and their products*. Vol.I. Ed. A.C. Hulme. Academic Press Inc, London, New York.

ESKIN, N.A.M. (1990). *Biochemistry of Foods*. Academic Press Inc. San Diego, California.

FENNEMA, O. y POWERIE, D.W. (1964). "Fundaments of low temperature food preservation". *Adv. Food Res.* 13, 219-347.

FLATH, R.A. y FORREY, R.R. (1977). "Volatile components of papaya (*Carica papaya* L., Solo variety)". *J. Agric. Food Chem.* 25, 103-108.

GALEAZZI, M.A. (1984). "Comportamento das Polifenoloxidasas em alimentos". *Archivos Latino Americanos de Nutrición* 34 (2), 269-289.

GALEAZZI, M.A., VALDEMIRO, C. SGARBIERI, C. y CONSTANTINIDES, S. M. (1981). "Isolation purification and physicochemical characterization of polyphenoloxidasas (PPO) from a dwarf variety of Banana (*Musa cavendishii*, L.). *J. Food Sci.* 46, 150-155.

GNANASEKHARAN, V. SHEWFELT, R.L. y CHINNAN, M.S. (1992). "Detection of color changes in green vegetables". *J. Food Sci.* 57 (1), 149-154.

GROSS, J. (1987). *Pigments in Fruits*. Academic Press Inc. London.

GRUDA, Z. y POSTOLSKI, J. (1986). *Tecnología de la congelación de los alimentos*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza.

GUADAGNI, D.G. (1969). *Quality and Stability of Frozen Foods*. Ed. Van Arsdel Copley and Olson Wiley, Inter-Science, New York.

HAARD, N.F. (1973). "Upsurge of particulate peroxidase in ripening banana fruit". *Phytochemistry* 12, 555-560.

HAMILTON, R.A. e ITO, P. (1968). "Sunrise-Solo-a different colored Solo papaya". *Hawaii Agric. Exp. Stn. Circ.* 69-72.

IBAR, L. (1986). *Cultivo del aguacate, chirimoya, mango, papaya*. Ed. Aedos, 3ª edición.

IKEMEFURA, J. y ADAMSON, J. (1985). "Chlorophyll and carotenoid changes in ripening palm fruit, *Elacis guineasis*" *Phytochemistry* 23, (7) 1413-1415.

ILKER, R. y SZCZESNIAK, S. (1990). "Structural and chemical bases for texture of plant food stuffs". *J. Texture Stud.* 21, 1-36.

INSTITUTO INTERNACIONAL DEL FRIO (1986). Recommendations for the processing and handling of frozen foods. 3rd edition. Ed. Acribia S.A. Zaragoza.

INSTITUTO INTERNACIONAL DEL FRIO (1990). *Alimentos Congelados. Procesado y distribución*. Ed. Acribia S.A. Zaragoza.

JAGTIANI, J., CHAN, H.T. Jr. y SAKAI, W.S. (1988). *Tropical Fruit Processing*. Academic Press, Inc., New York.

JUL, M. (1984). *The Quality of Frozen Foods*. Ed. by M. Jul. Academic Press, London, U.K.

KHACHIK, F., BEECHER, G.R. y GOLI, M.B. (1991). "Separation, identification and quantification of carotenoids in fruits, vegetables and Human Plasma by High Performance Liquid Chromatography". *Pure Apple Chem.* Vol. 63, N° 1, 71-80.

KAHN, V. (1976). "Polyphenoloxidase isoenzymes in avocado". *Phytochemistry* 15, 267-272.

KÖST, H.P. (1988). *Plant Pigments*. Vol.I. Ed. G. Zwig y J. Sherman, CRC Press Boca Ratón, Florida.

KOSTYLA, A.S. y CLYDESDALE, F.M. (1978). " The Psychophysical relationship between color and flavor". *Critical Reviews in Food Sci. and Nutrition*. 10, 303-321.

KRAMER, A., BURKARDT, G.T. y ROGERS, H.P. (1951). "The shear press. A device for measuring food quality". *Canner* 112, 34-49.

LABUZA, T.P., TANNENBAUM, S.R. y KAREL, M. (1970). "Water Content and Stability of Low-moisture and intermediate-moisture foods". *Food Technol.* 24 (5) 543-544, 546-548, y 550.

LAEMMLI, V.K. (1970). "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4". *Nature* 227, 680-685.

LAKSHMINARAYANA, S., SUBHADRA, N.V. y SUBRAMANAYAM, H. (1973). " Some aspects of developmental physiology of the mango fruit." *J. Hortic.* 45, 133-136.

LEE, C.Y. (1991). *Browning reaction, enzymatic. The encyclopedia of Food Science and Technology*. Ed. Y. Hui. New York.

LEHNINGER, A.L. (1986). *Principios de Bioquímica*. Ed. Omega, S.A. Barcelona.

LIAAEN-JENSEN, S. (1971). *Isolation, Reactions in carotenoids*. Ed: B. Verlag, S. Basel. Elsevier Applied Science Publishers.

MAC DOUGALL, D.B. (1984). "Colour vision and apperance measurement". En: *Sensory Analysis of Foods*. Ed. J.R.Piggott, Elsevier Applied Science Publishers.

MACGRATH, M.J. y KARAHADIAN, C. (1994). "Evaluation of physical, chemical and sensory propierties of pawpaw fruit (*Asimina triloba*) as indicators of ripeness" *J. Agric. Food Chem.* 42, 968-974.

MACKINNEY, G. (1961). Coloring matters. En: *The orange its Biochemistry and Physiology*. Ed. Sinclair, W.B. University of California. Printing Dep., Berkeley.

- MAIER, J. (1967). "Peroxidase behaviour in mature barley kernels". *J. Plant Sci.* 43, 43-45.
- MARIN, M.A. y CANO, M.P. (1992). "Patterns of Peroxidase in Reopening Mango (*Magnifera indica*, L.) Fruits". *J. Food Sci.* 57 (3), 690-692 y 734.
- MARIN, M.A. y CANO, M.P. (1993). "Effects of freezing preservation on mango (*Magnifera indica*, L.)". *Z Lebensm Unters Forsch.* 197, 537-540.
- MARIN, M.A., CANO, M.P. y FUSTER, C. (1992). "Freezing preservation of four Spanish mango cultivars (*Magnifera indica* L.): chemical and biochemical aspects". *Z Lebensm Unters Forsch* 194, 566-569.
- MENERY, R.C. y JONES, R.H. (1972). "Nitrate accumulation and reduction in pawpaw fruits". *Aust. J. Biol. Sci.* 25, 531-542.
- MIHALYI, K., VAMOS-VIGYAZO, L., KISS-KUTZ, N., y BABOS-SZEBENY, E. (1978). "The activities of polyphenoloxidase and peroxidase in fruits and vegetables as related to pH and Temperature". *Acta Aliment.* 7 (1), 57-67.
- MINGUEZ-MOSQUERA, M.I. Y HORNERO-MENDEZ, D. (1994a). "Formation and Transformation of Pigments during the Fruit Ripening of *Capsicum annuum* Cv. Bola and Agridulce". *J. Agric. Food Chem.* 42, 38-44.
- MINGUEZ-MOSQUERA, M.I. Y HORNERO-MENDEZ, D. (1994b). "Changes in Carotenoid esterification during the Fruit Ripening of *Capsicum annuum* Cv. Bola". *J. Agric. Food Chem.* 42, 640-644.
- MOON, R.C. e ITRI, L.M. (1984). *The Retinoids*. Eds. Sporn, M.B., Roberts, A.B., Goodman, D.S. Academic Press: New York.
- MOON, T.E. y MICOZZI, H.S. (1988). *Nutrition and Cancer Prevention investigating the Role of micronutrients*. Ed. M. Dekker. New York, Basel.
- MORDI, R.C. (1993). "Carotenoids: Functions and degradation". *Chem. and Ind.* 79-83.
- MOZSIK, G. JAVOR, T., TOTH, G. ZSOLDOS, T., TUGUY, A. (1984). "Interrelationships Between the Gastric Cytoprotective Effects of Vitamin A and B-Caroteno and the Gastric Mucosal Superoxide Dismutase Activity in Rats. *Acta Phys. Hung.* 64, 315-318.

- NAGLE, M.E. y HAARD, N.F. (1975). "Fractionation and characterization of peroxidase from ripe banana fruit". *J. Food Sci.* 40, 576-580.
- OGATA, J.N., KAWARS, Y., BEVENUE, A. y CASARETT, E.J. (1972). "The keptopheptose content of some tropical fruits". *J. Agric. Food Chem.* 20, 113-115.
- PALMER, J.K. (1971). "Organic acids in different fruits". *J. Agric. Food Chem.* 16, 121-124.
- PETO, R., DOLL, R., BUCKELEY, J.D., y SPORN, M.B. (1981). "Can Dietary B-Carotene Materially Reduce Human Cancer Rates?". *Nature* 290, 201-208.
- PHILIP, T. y CHEN, T. (1988a). "Separation and quantitative analysis of some carotenoid fatty acid esters of fruits by Liquid Chromatography". *J. Chromatogr.* 435, 113-126.
- PHILIP, T. y CHEN, T. (1988b). "Quantitative analysis of major carotenoid fatty acid esters in fruits by Liquid Chromatography: persimmon and papaya". *J. Food Sci.* 53, 1720-1722.
- PHILIPPON, J.J. (1975). Freezing of foods of vegetable origin. *Bull. Tech. d'Information* 296, 81-95.
- PLATTIGI, R.H. (1984). The sense of Task. En: *Sensory Analysis of Foods*. Ed. J.R. Piggott. Elsevier Applied. Sci. Publishers.
- PRINCE, N.C. (1992). Techniques for Enzymes extraction. En: *Enzyme assays. A practical Approach*. Ed. R. Eienthal, M.J. Dauson. I.R.L. Press at Oxford University Press. Oxford.
- REEVE, R.M. y BROWN, M.I. (1966). "Some structural and histochemical changes related to frozen fruits and vegetables". *Cryobiology*. 3, 214-223.
- REID, D.S. (1993). Basic Physical phenomena in the freezing and thawing of plant and animal tissues. En: *Frozen Food Technology*. Capítulo 1. Ed. C.P. Mallet. Blakie Academic and Professional Glasgow. (R.U.)
- RHODES, M.J.C. (1970). The climateric and Ripening of fruits. En: *Food Science and Technology. A series of monographs*. Capítulo 17. Ed. A.C. Hulme. Academic Press Inc. London

ROBERTSON, J.A., HORVAT, R.T., LYON, B.G., MEREDITH, F.I., SENTER, S. y OKIE W.R. (1990). "Comparisson of quality characteristics of selected yellow and white fleshed peach cultivars" *J. Food Sci.* 55, 1308-1311.

RODRIGUEZ, M.C. y GALAN, V. (1992). *Técnicas de cultivo de la papaya en Canarias*. Consejería de Agricultura y Pesca, Gobierno de Canarias. Cuaderno de divulgación 3/92.

ROLZ, C. (1973). "Chilling injury in the quality of tropical fruits during their storage". *Proc. Trop. Reg. Am. Soc. Hortic. Sci.* 14, 81-86.

SALUNKHE, D.K. (1984). Papaya. En: *Postharvest Biotechnology of fruits*. Vol. 1. Eds. D.K.Salunkhe, y B.B. Desai, CRC Press, Boca Ratón, Florida.

SAMSON, J.A. (1980). *Tropical Fruits. Tropical Agricultural Series*. Longman, New York.

SCOTT, D., (1975). Oxidoreductases. En: *Enzymes in Food Processing*. Capitulo 9. 2ª Edición. Ed. G. Reed. Academic Press, New York.

SELVARAJ, Y., PAL, D.K., SUBRAMANYAN, M.D. y IYER, C.P.A. (1982). "Changes in the chemical composition of four cultivars of papaya (*Carica papaya* L.) during growth and development". *J. Hortic. Sci.* 57, 135-139.

SHACKLADY, J. (1969). Fruit juices and Fruit juice beverages. En: *Food industries Manual*. Leonard Hills Books, London.

SHEKELLE, R.B., LIN, S., RAYNOR, W.S.Jr., LEPPER, M. MALIZA, C. ROSSOF, A.H., PAUL, O. SYROCK, A.M. y STAMLES, J. (1981). "Dietary vitamin A and Risk of Cancer in wester Electric Study". *Lancet* 2, 1185-1190.

STELZIG, D.A., AKHTAR, S. y RIBEIRO, J. (1972). "Catechol oxidase of Red Delicious apple peel". *Phytochemistry* 11, 535-538.

STOREY, W.B. (1972). *Papaya, in outliner of Perennial Crop Breeding in the Tropics*. Eds. F.P.Ferwerda, y F.Wit, Misc. Pap. Landbhogesch, Wageningen, Netherlands.

SZCZESNIAK, A.S. (1963). "Objetive measurement of food texture". *J. Food. Sci.* 28, 410-425.

TAKEO, T. (1965). "Tea leaf polyphenol oxidase. Part I. Solubilization and properties of the structurally bound polyphenoloxidase in tea leaves". *Agric. Biol. Chem.* 29, 558-561.

TANG, C.S. (1971). Benzylisothiocyanate of papaya fruit. *Phytochem.* 10, 117-121.

TOURAILLE, C. y SALE, P. (1977). *The Freezing Preservation of Foods*. Avi Publishing Co. Westport Conn.

ULRICH, R. (1970). Organic Acids. En: *The biochemistry of Fruits and their Products*. Capítulo 4, Vol I. Academic Press Inc. London, New York.

UNE (1976). Norma UNE nº 33-119-76. "Guía para la Instalación de una sala de cata".

VAMOS-VIGYAZO, L. (1981). " Polyphenoloxidase and Peroxidase in fruits and vegetables". *CRC critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15 (1), 49-127.

VAN DER BERG, L. (1968). Physiochemical changes in foods during freezing and subsequent storage. En: *Low temperature biology of foodstuffs*. Eds J. Hawthorne y E. Rolfe . Pergamon Press, Oxford.

WHITAKER, J.R. (1985). Mechanisms of oxidoreductases important in food component modification. En: *Chemical Changes in Food during Processing*. Ed. T. Richardson y J.W. Findley. Avi. Publishing, Westport.

WILKINSON, B.G. (1970). Physiological disorders of fruits after harvesting. En: *The Biochemistry of fruits and their products*. Vol. 1. Ed. A.G. Hulme. Academic Press. London y New York.

YAMAMOTO, H. Y. (1964). "Comparision of the Carotenoids in yellow and Red-Fleshed Carica papaya". *Nature*, 201, 1049-1050.

ZEUTHER, P., CHEFTEL, J.C. ERIKSSON, C. JUL, M. LENIGER, H., LINKO, P., VARELA, G. y VOS, G. (1983). *Thermal Processing and Quality of Foods*. Elsevier Applied Science Publishers. London and New York.

7. ANEXO

ANOTACIONES DEL ANEXO.

♂ - Símbolo hermafrodita.

♀ - Símbolo hembra.

liof. - Producto Liofilizado

g prod - Gramos de Producto.

Δ DO/min - Incremento de densidad óptica por minuto (unidades de expresión de la actividad enzimática).

$\mu\text{g/g prod}$ - Microgramos de β -caroteno por gramo de producto.

Para esclarecer en las Tablas del anexo el análisis estadístico empleado, se recurrió a la utilización de letras mayúsculas y minúsculas, cuyo significado es:

- Letras minúsculas distintas en la misma fila y a la izquierda de la barra, indican diferencias significativas ($p < 0,05$) en el tiempo.

- Letras mayúsculas distintas en la misma columna y a la derecha de la barra, indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre sexos.

		DIAS DE CONSERVACION FRIGORIFICA (14°C)			
PARAMETROS BIOQUIMICOS		1 DIA (1 ^{er} GRADO)	5 DIAS (2 ^o GRADO)	10 DIAS (3 ^{er} GRADO)	15 DIAS (4 ^o GRADO)
PROTEINA mg prot/g liof	♂	5,73 a/A	5,73 a/A	7,97 b/A	6,36 ab/A
	♀	7,60 ac/B	6,65 a/A	8,91 b/B	8,27 ac/B
POD ADO/min/g liof	♂	174,16 a/A	155,54 bc/A	163,86 ac/A	160,16 b/A
	♀	201,43 a/B	192,19 ab/B	171,99 b/B	170,78 b/A
PPO ADO/min/g liof	♂	129,74 ac/A	133,96 ad/A	144,73 bd/A	120,60 c/A
	♀	191,16 a/B	130,22 be/B	158,50 c/B	135,49 de/A
POD ESPECIFICA ADO/min/mg prot	♂	30,41 a/A	27,14 bd/A	20,56 c/A	25,18 d/A
	♀	26,65 a/B	28,91 a/B	19,30 bc/B	20,66 c/B
PPO ESPECIFICA ADO/min/mg prot	♂	22,66 a/A	23,38 a/A	18,17 b/A	18,96 b/A
	♀	25,15 a/B	19,59 b/B	17,80 bc/A	16,39 c/B

Tabla 1: Evolución de los parámetros bioquímicos durante la conservación frigorífica (14°C).

		CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO (-24°C)					
PARAMETROS BIOQUIMICOS		CONTROL	R. CONG	3 MESES	6 MESES	9 MESES	12 MESES
PROTEINAS mg prot/g liof	♂	13,75 a/A	12,73 ab/A	11,78 b/A	12,43 ab/A	11,15 b/A	11,73 b/A
	♀	12,85 ab/B	12,65 ab/A	15,30a/B	13,43 ab/B	14,32 a/B	11,36 b/A
POD ADO/min/g liof	♂	141,75 a/A	164,30 b/A	153,12 ab/A	165,96 b/A	163,12 b/A	157,07 ab/A
	♀	144,41 a/A	166,85 b/A	182,32 b/B	166,66 b/A	175,94 b/B	131,08 a/B
PPO ADO/min/g liof	♂	126,51 a/A	154,17 b/A	123,31 a/A	145,56 cd/A	153,56 bc/A	145,09 d/A
	♀	109,62 a/B	121,48 b/B	163,25 c/B	118,47 ab/B	140,50 d/B	119,19 ab/B
POD ESPECIFICA ADO/min/mg prot	♂	10,31 a/A	12,90 b/A	12,99 b/A	13,36 b/A	14,63 b/A	13,39 b/A
	♀	11,24 a/A	13,19 a/A	11,91 a/B	12,40 a/B	12,29 a/B	11,54 a/B
PPO ESPECIFICA ADO/min/mg prot	♂	4,81 a/A	5,93 bf/A	6,18 c/A	6,48 d/A	7,81 e/A	5,95 f/A
	♀	8,53 a/B	9,60 be/B	10,67 cf/B	8,82 d/B	9,81e/B	10,49 f/B

Tabla 2: Evolución de los parámetros bioquímicos durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

		DIAS DE CONSERVACION FRIGORIFICA (14°C)			
PARAMETROS FISICO-QUIMICOS		1 DIA (1 ^{er} GRADO)	5 DIAS (2 ^o GRADO)	10 DIAS (3 ^{er} GRADO)	15 DIAS (4 ^o GRADO)
pH	♂	5,5 a/A	5,44 b/A	5,46 ab/A	5,45 b/A
	♀	5,41 a/B	5,48 b/B	5,49 b/B	5,72 c/B
ACIDEZ TITULABLE g ác. citrico/ 100 g prod	♂	0,13 a/A	0,13 a/A	0,13 a/A	0,13a/A
	♀	0,13 a/A	0,11 ab/B	0,11 ab/B	0,10 b/B
°BRIX	♂	13,05 a/A	13,08 a/A	13,1 a/A	14,33 b/A
	♀	13,63 a/B	14,33 b/B	14,55 b/B	15,38 c/B
SOLIDOS TOTALES %	♂	14,1791 a/A	14,1224 a/A	14,0383 a/A	15,2987 b/A
	♀	15,1534 a/B	16,0896 ac/B	15,9499 ac/B	16,5719bc/B
CONTENIDO EN AGUA %	♂	85,8208 a/A	85,8776 a/A	88,4617 a/A	84,7013 b/A
	♀	84,8466 a/B	83,9104 ac/B	84,0502 ac/B	83,4281 bc/B

Tabla 3: Evolución de los parámetros físico-químicos durante la conservación frigorífica (14°C).

		CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO (-24°C)					
PARAMETROS FISICO-QUIMICOS		CONTROL	R. CONG	3 MESES	6 MESES	9 MESES	12 MESES
pH	♂	6,41 a/A	5,59 b/A	5,53 c/A	5,59 b/A	5,64 d/A	5,49 e/A
	♀	6,17 a/B	5,46 b/B	5,57 c/B	5,73 d/B	5,55 c/B	5,46 b/B
ACIDEZ TITULABLE g ác. citrico/100 g prod	♂	0,10 ab/A	0,11 a/A	0,08 b/A	0,10 ab/A	0,10 ac/A	0,09 bc/A
	♀	0,09 ab/A	0,11c/A	0,10 bc/B	0,08 a/B	0,09 ab/B	0,10 c/B
°BRIX	♂	12,80 a/A	13,30bc/A	13,20 b/A	13,40 bc/A	13,55 c/A	11,98 d/A
	♀	12,03 ab/B	12,3abc/B	12,4 ac/B	11,68 b/B	12,75 c/B	12,73 ac/B
SOLIDOS TOTALES %	♂	14,0383ac/A	14,2441ac/A	11,8560b/A	13,7768a/A	14,8839ac/A	15,2124c/A
	♀	15,9499a/B	14,9506ab/A	14,3964ab/B	14,8038ab/A	12,9656b/B	15,0055ab/A
CONTENIDO EN AGUA %	♂	85,9617ac/A	85,7560ac/A	88,1440b/A	86,2232a/A	85,1161ac/A	84,7876c/A
	♀	84,0502a/B	85,0494ab/B	85,6036ab/B	85,2188ab/A	87,0344b/B	84,9945ab/A

Tabla 4: Evolución de los parámetros físico-químicos durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

		DIAS DE CONSERVACION FRIGORIFICA (14°C)			
PARAMETROS QUIMICOS		1 DIA (1 ^{er} GRADO)	5 DIAS (2 ^o GRADO)	10 DIAS (3 ^{er} GRADO)	15 DIAS (4 ^o GRADO)
PECTINAS TOTALES g/100 g de producto	♂	0,35 a/A	0,34 a/A	0,42 b/A	0,39 a/A
	♀	0,34 a/A	0,46 b/B	0,45 b/A	0,36 a/A
ACIDOS ORGANICOS mg/100 g producto	♂	370,61	319,72	290,03	270,59
	♀	292,47	349,71	394,98	399,67
CAROTENOS TOTALES µg/g de producto	♂	8,76	NO SE DETERMINO	8,84	12,39
	♀	8,25	NO SE DETERMINO	10,26	20,51

Tabla 5: Evolución de los parámetros químicos durante la conservación frigorífica (14°C).

		CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO (-24°C)					
PARAMETROS QUIMICOS		CONTROL	R. CONG	3 MESES	6 MESES	9 MESES	12 MESES
ACIDOS ORGANICOS mg/100 g de producto	♂	763,15	521,35	315,88	447,87	406,60	521,90
	♀	1535,40	564,54	512,14	439,93	948,02	494,66
PECTINAS TOTALES g/100 g de producto	♂	0,34 ac/A	0,32 ac/A	0,47 b/A	0,30 a/A	0,43 bcd/A	0,33 ad/A
	♀	0,66 a/B	0,39 b/B	0,56 a/B	0,55 a/B	0,32 bc/B	0,22 c/B
CAROTENOS TOTALES µg/g de producto	♂	10,16	12,18	8,32	8,94	9,72	9,55
	♀	9,61	8,78	7,89	7,05	9,34	7,25

Tabla 6: Evolución de los parámetros químicos durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

		DIAS DE CONSERVACION FRIGORIFICA (14°C)			
ACIDOS ORGANICOS		1 DIA (1 ^{er} GRADO)	5 DIAS (2 ^o GRADO)	10 DIAS (3 ^{er} GRADO)	15 DIAS (4 ^o GRADO)
ACIDO OXALICO mg/100 g producto	♂	1,19 a/A	1,61 b/A	ND c/A	ND c/A
	♀	1,75 a/B	1,58 a/A	2,41 a/B	2,79 b/B
ACIDO CITRICO mg/100 g producto	♂	200,14 a/A	146,37 a/A	57,30 b/A	58,97 b/A
	♀	81,17 a/B	161,19 b/A	158,48 b/B	180,01 b/B
ACIDO GALACTURONICO mg/100 g producto	♂	ND a/A	ND a/A	39,82 b/A	34,26 b/A
	♀	ND a/A	ND a/A	39,82 b/B	45,15 b/B
ACIDO L(+) MALICO mg/100 g producto	♂	111,52 a/A	103,22 a/A	110,16 a/A	93,52 a/A
	♀	146,51 a/B	110,22 b/A	105,14 b/A	103,32 b/A
ACIDO SUCCINICO mg/100 g producto	♂	57,32 a/A	68,21 ac/A	82,26 bc/A	83,71 b/A
	♀	62,65 a/A	76,42 a/A	88,82 b/A	68,24 a/B
ACIDO FUMARICO mg/100 g producto	♂	0,44 a/A	0,31 b/A	0,49 a/A	0,13 c/A
	♀	0,39 a/B	0,30 b/A	0,31 ab/A	0,16 c/A

Tabla 7: Evolución del contenido en ácidos orgánicos durante la conservación frigorífica (14°C).

CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO (-24°C)							
ACIDOS ORGANICOS		CONTROL	R. CONG	3 MESES	6 MESES	9 MESES	12 MESES
ACIDO OXALICO mg/100 g de producto	♂	3,05 a/A	0,94 bc/A	0,98 c/A	0,57 c/A	3,18 a/A	2,96 a/A
	♀	5,71 a/B	5,39 a/B	2,17 b/B	3,21 c/B	6,89 d/B	4,56 b/B
ACIDO CITRICO mg/100 g de producto	♂	281,86 a/A	154,71 b/A	145,53 b/A	205,49 c/A	172,67 d/A	203,62 c/A
	♀	1017,50 a/B	214,79 b/B	163,71 c/B	161,82 c/B	533,24 d/B	194,04 e/B
ACIDO GALACTURONICO mg/100 g de producto	♂	96,30 a/A	37,3 b/A	15,66 c/A	23,96 d/A	44,70 b/A	47,52 b/A
	♀	75,15 a/B	42,26 b/B	46,77 b/B	41,96 b/B	96,10 c/B	41,51 b/B
ACIDO L(+) MALICO mg/100 g de producto	♂	278,01 a/A	233,74 b/A	88,04 c/A	132,80 d/A	11,61 e/A	128,12 d/A
	♀	304,73 a/B	188,23 b/B	172,95 c/B	165,93 c/B	224,74 d/B	153,24 c/B
ACIDO SUCCINICO mg/100 g de producto	♂	5,69 a/A	5,60 b/A	3,58 c/A	4,62 d/A	71,14 c/A	139,49 e/A
	♀	131,55 a/B	113,19 b/B	126,00 a/B	66,79 c/B	86,70 d/B	101,07 e/B
ACIDO FUMARICO mg/100 g de producto	♂	0,52 a/A	0,31 ab/A	0,17 b/A	0,20 b/A	0,30 b/A	0,19 b/A
	♀	0,77 a/B	0,68 ab/B	0,54 bd/B	0,22 c/A	0,35 cd/B	0,24 c/B

Tabla 8: Evolución del contenido en ácidos orgánicos durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

		DIAS DE CONSERVACION FRIGORIFICA (14°C)			
COMPUESTOS CAROTENOIDES		1 DIA (1 ^{er} GRADO)	10 DIAS (3 ^{er} GRADO)	15 DIAS (4 ^o GRADO)	
7	ZEAXANTINA	♀	0,05 a/A	0,06 b/A	0,05 a/A
11	CRIFTOFLAVINA	♀	ND a/A	0,18 b/A	0,24 c/A
12	B-CRIFTOFLAVINA	♀	0,21 a/A	0,27 b/A	0,53 c/A
13	ESTER DE VIOLAXANTINA	♀	0,11 a/A	0,07 b/A	0,23 c/A
14	ESTER DE VIOLAXANTINA	♀	0,53 a/A	0,25 b/A	0,54 a/A
15	ESTER DE LUTEINA	♀	0,17 a/A	0,13 b/A	0,31 b/A
16	LICOPENO	♀	2,88 a/A	3,61 b/A	3,26 c/A
17	NEOLICOPENO A	♀	1,01 a/A	0,64 b/A	1,39 c/A
19	B-CRIFTOXANTINA 5,6-EPOXIDO	♀	0,76 a/A	0,85 b/A	1,15 c/A
20	ESTER 9-cis 6 9'-cis CRIFTOXANTINA	♀	0,30 a/A	0,31 a/A	0,53 b/A
21	ESTER B-CRIFTOXANTINA 5,6-EPOXIDO	♀	0,76 a/A	0,79 a/A	1,22 b/A
22	ESTER B-CRIFTOXANTINA	♀	0,56 a/A	0,11 b/A	0,31 c/A
23	ESTER B-CRIFTOXANTINA	♀	1,34 a/A	1,38 a/A	2,33 b/A
24	ESTER B-CRIFTOXANTINA	♀	0,10 a/A	0,11 a/A	0,39 b/A

Tabla 9: Evolución de los compuestos carotenoides en papaya hermafrodita durante la conservación frigorífica (14°C).

		DIAS DE CONSERVACION FRIGORIFICA (14°C)			
COMPUESTOS CAROTENOIDES		1 DIA (1 ^{er} GRADO)	10 DIAS (3 ^{er} GRADO)	15 DIAS (4 ^o GRADO)	
7	ZEAXANTINA	♀	0,05 a/A	0,06 b/A	0,05 a/A
11	CRIFTOFLAVINA	♀	ND a/A	0,18 b/A	0,24 c/A
12	B-CRIFTOFLAVINA	♀	0,21 a/A	0,27 b/A	0,53 c/A
13	ESTER DE VIOLAXANTINA	♀	0,11 a/A	0,07 b/A	0,23 c/A
14	ESTER DE VIOLAXANTINA	♀	0,53 a/A	0,25 b/A	0,54 a/A
15	ESTER DE LUTEINA	♀	0,17 a/A	0,13 b/A	0,31 b/A
16	LICOPENO	♀	2,88 a/A	3,61 b/A	3,26 c/A
17	NEOLICOPENO A	♀	1,01 a/A	0,64 b/A	1,39 c/A
19	B-CRIFTOXANTINA 5,6-EPOXIDO	♀	0,76 a/A	0,85 b/A	1,15 c/A
20	ESTER 9-cis ó 9'-cis CRIFTOXANTINA	♀	0,30 a/A	0,31 a/A	0,53 b/A
21	ESTER B-CRIFTOXANTINA 5,6-EPOXIDO	♀	0,76 a/A	0,79 a/A	1,22 b/A
22	ESTER B-CRIFTOXANTINA	♀	0,56 a/A	0,11 b/A	0,31 c/A
23	ESTER B-CRIFTOXANTINA	♀	1,34 a/A	1,38 a/A	2,33 b/A
24	ESTER B-CRIFTOXANTINA	♀	0,10 a/A	0,11 a/A	0,39 b/A

Tabla 10: Evolución de los compuestos carotenoides en papaya hembra durante la conservación frigorífica (14°C).

		CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO (-24°C)						
COMPUESTOS CAROTENOIDES		CONTROL	R. CONG	3 MESES	6 MESES	9 MESES	12 MESES	
7	ZEAXANTINA	♀	0,04 a/A	0,04 a/A	0,04 b/A	0,03 c/A	0,04 a/A	0,03 d/A
11	CRIFTOFLAVINA	♀	0,08 a/A	0,08 ac/A	0,15 b/A	0,08 a/A	0,10 ce/A	0,10 de/A
12	B-CRIFTOFLAVINA	♀	0,42 a/A	0,45 b/A	0,33 c/A	0,30 d/A	0,40 e/A	0,37 f/A
13	ESTER DE VIOLAXANTINA	♀	0,11 ab/A	0,10 ad/A	0,12 bc/A	0,12 bc/A	0,13 c/A	0,10 d/A
14	ESTER DE VIOLAXANTINA	♀	0,17 a/A	0,19 b/A	0,19 b/A	0,21 c/A	0,21 c/A	0,10 d/A
15	ESTER DE LUTEINA	♀	0,22 a/A	0,28 b/A	0,35 c/A	0,31 d/A	0,32 d/A	0,34 e/A
16	LICOPENO	♀	2,00 a/A	3,34 b/A	1,43 c/A	2,47 d/A	2,61 e/A	2,49 d/A
17	NEOLICOPENO A	♀	1,56 a/A	2,08 b/A	0,46 c/A	0,82 d/A	0,62 e/A	0,37 f/A
19	B-CRIFTOXANTINA 5,6-EPOXIDO	♀	1,08 a/A	0,77 b/A	1,06 c/A	0,75 b/A	0,84 d/A	1,02 ac/A
20	ESTER 9-cis 6 9'-cis CRIFTOXANTINA	♀	0,68 a/A	0,54 b/A	0,57 b/A	0,41 c/A	0,49 d/A	0,59 b/A
21	ESTER B-CRIFTOXANTINA 5,6-EPOXIDO	♀	0,89 a/A	0,95 bd/A	0,98 b/A	0,97 bd/A	1,12 c/A	0,93 d/A
22	ESTER B-CRIFTOXANTINA	♀	0,10 a/A	ND b/A	ND b/A	0,20 c/A	ND b/A	0,24 d/A
23	ESTER B-CRIFTOXANTINA	♀	2,46 a/A	3,01 b/A	2,64 c/A	2,00 d/A	2,49 a/A	2,54 e/A
24	ESTER B-CRIFTOXANTINA	♀	0,34 a/A	0,34 a/A	0,35 a/A	0,26 b/A	0,36 a/A	0,37 a/A

Tabla 11: Evolución de los compuestos carotenoides en papaya hermafrodita durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

		CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO (-24°C)					
COMPUESTOS CAROTENOIDES		CONTROL	R. CONG	3 MESES	6 MESES	9 MESES	12 MESES
7	ZEAXANTINA ♀	0,04 a/A	0,03 b/B	0,03 c/B	0,03 b/B	0,05 d/B	0,03 b/B
11	CRIFTOFLAVINA ♀	0,20 a/B	0,14 b/B	0,14 b/B	0,11 c/B	0,09 d/B	0,08 e/B
12	B-CRIFTOFLAVINA ♀	0,45 a/B	0,34 bc/B	0,35 b/B	0,29 c/B	0,34 bc/B	0,22 d/B
13	ESTER DE VIOLAXANTINA ♀	0,14 a/B	0,12 b/B	0,12 b/A	0,08 c/B	0,14 a/B	0,09 d/B
14	ESTER DE VIOLAXANTINA ♀	0,20 a/B	0,17 b/B	0,19 a/B	0,15 bc/B	0,15 c/B	0,10 d/A
15	ESTER DE LUTEINA ♀	0,32 a/B	0,29 b/B	0,31 a/B	0,24 c/B	0,25 d/B	0,24 c/B
16	LICOPENO ♀	1,95 a/B	2,52 b/B	1,14 c/B	2,36 d/B	2,72 e/B	1,11 f/B
17	NEOLICOPENO A ♀	0,76 a/B	1,17 b/B	0,35 cd/B	0,36 d/B	0,77 a/B	0,40 e/B
19	B-CRIFTOXANTINA 5,6-EPOXIDO ♀	0,87 a/B	0,71 b/B	0,74 c/B	0,32 d/B	0,74 c/B	0,68 e/B
20	ESTER 9-cis 6 9'-cis CRIFTOXANTINA ♀	0,56 a/B	0,41 b/B	0,51 c/B	0,34 d/B	0,48 e/B	0,55 a/B
21	ESTER B-CRIFTOXANTINA 5,6-EPOXIDO ♀	0,86 a/B	0,62 b/B	1,06 c/B	0,60 b/B	0,85 a/B	0,97 d/B
22	ESTER B-CRIFTOXANTINA ♀	0,23 a/B	0,18 b/B	0,17 b/B	0,12 c/B	0,25 a/B	0,49 d/B
23	ESTER B-CRIFTOXANTINA ♀	2,54 a/B	1,85 b/B	2,37 c/B	1,75 b/B	2,17 d/B	1,79 b/B
24	ESTER B-CRIFTOXANTINA ♀	0,51 a/B	0,25 b/B	0,40 c/B	0,31 d/B	0,37 e/B	0,51 a/B

Tabla 12: Evolución de los compuestos carotenoides en papaya hembra durante la congelación y conservación en gelado (-24°C).

		DIAS DE CONSERVACION FRIGORIFICA (14°C)			
PARAMETROS FISICOS		1 DIA (1 ^{er} GRADO)	5 DIAS (2 ^o GRADO)	10 DIAS (3 ^{er} GRADO)	15 DIAS (4 ^o GRADO)
FIRMEZA N	♂	33,29 a/A	5,34 b/A	3,75 c/A	2,00 d/A
	♀	20,58 a/B	6,83 b/B	4,30 c/A	2,84 d/B
L	♂	31,64 a/A	32,47 b/A	32,96 c/a	29,72 d/A
	♀	38,47 a/B	35,91 b/B	34,12 c/B	33,04 d/B
a _L	♂	6,51 a/A	8,78 b/A	8,11 c/A	8,42 d/A
	♀	7,55 a/B	9,43 b/B	9,19 c/B	11,07 d/B
b _L	♂	30,41 a/A	27,14 b/A	20,56 b/A	25,18 c/A
	♀	26,65 a/B	28,91 b/B	19,30 c/B	20,66 d/B

Tabla 13: Evolución de los parámetros físicos durante la conservación frigorífica (14°C).

CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO (-24°C)							
PARAMETROS FISICOS		CONTROL	R. CONG	3 MESES	6 MESES	9 MESES	12 MESES
FIRMEZA N/g de producto	♂	1,66 a/A	1,58 a/A	2,81 b/A	1,73 a/A	2,52 b/A	1,01 a/A
	♀	1,40 a/B	1,35 a/A	1,80 a/B	1,89 b/B	1,62 b/A	1,69 b/B
L	♂	32,96 a/A	28,78 b/A	28,48 b/A	37,07 c/A	30,32 d/A	31,14 d/A
	♀	34,12 a/B	33,82 ad/B	31,35 b/B	36,45 c/B	32,95 d/B	34,76 a/B
a _L	♂	10,11 a/A	10,05 a/A	9,97 a/A	9,67 a/A	9,81 a/A	9,53 a/A
	♀	9,19 a/B	11,42 b/B	7,6 c/B	7,86 cd/B	8,26 d/B	10,51 e/B
b _L	♂	19,53 a/A	17,49 b/A	17,57 b/A	23,60 c/A	17,66 b/A	17,80 b/A
	♀	20,00 a/B	20,22 a/B	19,73 a/B	23,14 b/B	19,64 c/B	19,88 bc/B
EXUDADO ml/g de Producto	♂	*****	6,01 a/A	9,04 b/A	4,09 c/A	7,87 b/A	5,11ac/A
	♀	*****	2,82 a/B	2,76 a/B	0,45 b/B	1,67 a/B	1,10 a/B

Tabla 14: Evolución de los parámetros físicos durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

		CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO (-24°C)					
OTROS PARAMETROS		CONTROL	R. CONG	3 MESES	6 MESES	9 MESES	12 MESES
HUE (h)	♂	62,63	60,11	60,42	67,72	60,93	61,83
	♀	65,32	60,54	68,93	71,23	67,19	62,15
COEFICIENTE DE SATURACION (C)	♂	21,99	20,17	20,20	25,50	20,20	20,19
	♀	22,01	23,22	21,14	24,44	21,30	22,49
DIFERENCIA DE COLOR TOTAL (ΔE)	♂	*****	4,70	4,90	5,80	3,40	2,60
	♀	*****	2,30	3,20	4,13	1,54	1,50
RELACION AZUCARES/ACIDOS (INDICE DE CALIDAD)	♂	128,00	120,90	165,00	134,00	135,50	133,11
	♀	133,66	111,81	124,00	146,00	141,66	127,30

Tabla 15: Evolución de otros parámetros durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

CONSERVACION EN ESTADO CONGELADO (-24°C)								
PARAMETROS SENSORIALES (ACEPTABILIDAD)			CONTROL	R. CONG	3 MESES	6 MESES	9 MESES	12 MESES
R O D A J A S	TEXTURA	♂	7.90 a/A	6.10 b/A	5.60 bc/A	5.90 bc/A	5.10 bc/A	4.90 c/A
		♀	7.80 a/A	5.20 b/B	6.60 c/A	5.70 bc/A	4.20 b/B	6.60 ac/A
	COLOR	♂	7.70 a/A	7.10 a/A	7.00 ab/A	8.00 ac/A	6.20 b/A	6.20 bc/A
		♀	6.80 a/B	6.90 a/A	7.20 a/A	7.10 a/B	6.40 a/A	6.90 a/A
	SABOR	♂	7.90 ab/A	7.50 b/A	6.50 a/A	6.60 abc/A	5.30 c/A	5.20 c/A
		♀	7.70 a/A	7.10 ac/A	5.80 bce/A	6.30 ab/A	4.40 e/A	6.00 ae/A
P O S T R E S	TEXTURA	♂	7.70 ac/A	7.80 c/A	7.70 abc/A	7.70 abc/A	7.00 ad/A	6.50 bd/A
		♀	7.80 a/A	7.90 a/A	7.70 a/A	7.80 a/A	7.80 a/B	7.20 a/A
	COLOR	♂	7.80 ac/A	8.20 ac/A	8.40 ac/A	8.40 a/A	7.60 bc/A	7.90 ab/A
		♀	7.90 ac/A	7.70 ac/A	8.00 ac/A	8.50 a/A	7.70 bc/A	7.80 bc/A
	SABOR	♂	8.00 a/A	7.90 a/A	8.10 a/A	7.70 a/A	7.50 a/A	7.60 a/A
		♀	8.80 a/B	8.00 ac/A	7.30 ac/A	7.70 bc/A	7.70 bc/A	8.20 ac/A

Tabla 16: Evolución de la aceptabilidad sensorial en rodajas y postres de papaya durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

CONSERVACION A -24°C		PARAMETROS SENSORIALES ANALISIS DESCRIPTIVO RODAJAS								
		FIRMEZA			COLOR			SABOR		
		B	LF	F	NP	NB	NPA	PD	D	MD
CONTROL	♀	20	50	30	0	90	10	0	70	30
	♀	10	50	40	70	30	0	30	50	20
R. CONG.	♀	20	70	10	90	10	0	40	20	40
	♀	80	20	0	0	90	10	0	70	30
3 MESES	♀	70	30	0	30	60	10	30	70	0
	♀	30	60	10	20	60	20	60	0	40
6 MESES	♀	30	30	40	10	90	0	30	30	40
	♀	40	10	50	0	70	30	10	50	40
9 MESES	♀	50	50	0	0	70	30	60	30	10
	♀	70	20	10	0	60	40	60	20	20
12 MESES	♀	40	20	40	20	30	50	70	10	20
	♀	10	50	40	10	90	0	40	50	10

B Blando
 NP Naranja pálido
 PD Poco dulce
 LF Ligeramente firme
 NB Naranja brillante
 D Dulce
 F Firme
 NPA Naranja pardo
 MD Muy dulce

Tabla 17: Evolución de los parámetros sensoriales: Análisis descriptivo en rodajas de papaya durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).

		PARAMETROS SENSORIALES ANALISIS DESCRIPTIVO POSTRES								
CONSERVACION A -24°C		FIRMEZA			COLOR			SABOR		
		B	LF	F	NP	NB	NPA	PD	D	MD
CONTROL	♂	80	0	20	0	80	20	20	40	40
	♀	80	0	20	50	50	0	60	10	30
R. CONG.	♂	80	10	10	10	90	0	0	40	60
	♀	80	20	0	10	80	10	0	30	70
3 MESES	♂	80	10	10	0	100	0	50	10	40
	♀	80	20	0	10	90	0	50	10	40
6 MESES	♂	60	10	30	20	80	0	30	60	10
	♀	70	10	20	20	80	0	30	50	20
9 MESES	♂	70	10	20	10	80	10	20	60	20
	♀	60	30	10	30	50	20	20	60	20
12 MESES	♂	90	10	0	0	100	0	0	60	40
	♀	90	0	10	40	60	0	0	70	30

B Blando
NP Naranja pálido
PD Poco dulce

LF Ligeramente firme
NB Naranja brillante
D Dulce

F Firme
NPA Naranja pardo
MD Muy dulce

Tabla 18: Evolución de los parámetros sensoriales: Análisis descriptivo en postres de papaya durante la congelación y conservación en estado congelado (-24°C).